

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Centre des Sciences des Matériaux

Structure de Recherche : Laboratoire de Matériaux Nanotechnologie et Environnement

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie organique et Phytochimie

Présentée et soutenue le : 11 / 12 / 2020 par :

Khalid CHATOUI

**Étude phytochimique d'extraits de graines de *Lépidium sativum* :
Évaluation des activités biologiques et des propriétés anticorrosives et
antioxydantes**

JURY

Abdallah GUENBOUR	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Président
Touria ZAIR	PES	Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail de Meknès	Rapporteur/Examineur
Lhou MAJIDI	PES	Faculté Polydisciplinaire d'Errachidia, Université Moulay Ismail de Meknès	Rapporteur/Examineur
Abdelkader ZARROUK	PH	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Rapporteur/Examineur
Noureddine SAFI	PES	Ecole Normale Supérieure, Université Mohammed V de Rabat	Examineur
Abdelkbir BELLAOUCHOU	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Examineur
Hicham HARHAR	PA	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Invité
Mohamed TABYAOU	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Directeur de thèse

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mes parents.

À

Ma femme et mes enfants.

Remerciements

Ce travail a été effectué dans le Laboratoire de Matériaux Nanotechnologie et Environnement (LMNE) de la faculté de sciences de Rabat sous la direction du Mr Mohamed TABYAOUI.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse, Mr Mohamed TABYAOUI, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté des Sciences de Rabat et Vice doyen des affaires académiques et pédagogiques, je lui témoigne toute ma gratitude pour m'avoir accueilli et avoir dirigé ce travail de thèse. Je le remercie pour ses informations avisées et son appui.

Je tiens particulièrement à remercier, Mr Abdallah GUENBOUR, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté des Sciences de Rabat d'avoir accepté de présider le jury de thèse. Qu'il soit assuré de mes sentiments de respects et de haute considération.

J'adresse de chaleureux remerciements à Mme. Touria ZAIR, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté des Sciences de Meknès, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant avec une grande sympathie de siéger parmi mon jury de thèse en tant que rapporteur et examinateur.

Je tiens à remercier sincèrement Mr Lhou MAJIDI, Professeur de l'Enseignement Supérieur à faculté Polydisciplinaire d'Errachidia, pour l'honneur qu'il m'a fait en tant que rapporteur et examinateur de ce travail.

Je voudrais exprimer toute ma reconnaissance à Mr Abdelkader ZARROUK Professeur Habilité à la faculté des Sciences de Rabat qui a accepté de juger ce travail en tant que rapporteur et examinateur.

Je témoigne toute ma gratitude à Mr Abdelkadir BELLAOUCHOU Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté des Sciences de Rabat pour avoir examiné ce travail.

Je présente tous mes remerciements à Mr Noureddine SAFI Professeur de l'Enseignement Supérieur à Ecole Normale Supérieure de Rabat pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger ce travail en tant qu'examineur.

Je remercie assez chaleureusement Mr Hicham HARHAR Professeur assistant à la faculté des Sciences de Rabat pour sa participation en tant que membre du jury.

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des graines de la plante *lépidium sativum* L (*GLS*), appartenant à la famille des *Brassicaceae*. Les échantillons étudiés sont issus de quatre régions du pays, notamment les régions (Tafraout, Haouz, BenAhmed et Rommani). Les objectifs de ce travail sont :

Étudier la composition chimique des huiles végétale et quantifier les teneurs en polyphénols totaux.

Évaluer les activités antioxydante, antibactérienne et antifongique de l'huile végétale et des extraits des *GLS*, d'examiner l'effet inhibiteur de l'huile et de l'extrait méthanolique contre la corrosion de l'acier C35 en milieu acide HCl 1.0 M. La composition chimique de l'huile a été effectuée par CPG/MS, tandis que l'utilisation de HPLC est utilisée pour la détermination de la teneur en tocophérol. Cette étude a révélé que les huiles des *GLS* de la région de Tafraout possèdent des propriétés antioxydantes élevées par rapport aux autres régions. Nous avons enregistré une corrélation positive entre les trois tests DPPH, FRAP et ABTS ce qui explique que la contribution des flavonoïdes $R^2=0.92$ pourrait être utilisée comme une source biologique d'antioxydants naturels. L'activité antibactérienne de l'huile de Tafraout est satisfaisante contre les bactéries testées, de même, son extrait méthanolique présente une inhibition fongique à la dilution de 1/100. Ces résultats indiquent que les huiles testées représentent une source potentielle de substances antibactériennes naturelles qui peuvent être utilisées contre des germes pathogènes.

Les résultats des études gravimétriques et électrochimiques montrent que l'efficacité inhibitrice augmente avec l'augmentation de la concentration en huile et en extrait méthanolique pour une valeur de 2 g/L. L'étude de l'effet de la température 303-333 K sur le comportement de l'acier C35 dans le milieu HCl 1.0 M avec et sans inhibiteur révèle que les efficacités inhibitrices diminuent légèrement avec l'augmentation de la température mais garde leur caractère inhibiteur. Les paramètres E_a , ΔS_a et ΔH_a ont été estimés et discutés. En effet, d'une façon générale, l'utilisation de ces extraits naturels permet donc de rompre avec les moyens de protection classique.

Mots clés : Graines *lépidium sativum*, Huiles végétales, Activité antioxydante, Activité biologique, Inhibiteur de corrosion, Acier C35.

Summary

In the framework of the discovery of new antioxidants from natural sources, we were interested in this work in the study of the seeds of the plant *lepidium sativum* L (GLS), belonging to the Brassicaceae family. The samples studied are from four regions of the country, including the regions (Tafraout, Haouz, BenAhmed and Rommani). The objectives of this work are :

To study the chemical composition of vegetable oils and quantify the contents of total polyphenols.

To evaluate the antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the vegetable oil and the GLS extracts, to examine the inhibitory effect of the oil and the methanolic extract against the corrosion of C35 steel in HCl 1.0 M acid medium. The chemical composition of the oil was performed by GPC/MS, while the use of HPLC is used for the determination of tocopherol content. This study revealed that GLS oils from the Tafraout region have high antioxidant properties compared to other regions. We recorded a positive correlation between the three tests DPPH, FRAP and ABTS which explains that the contribution of flavonoids $R^2=0.92$ could be used as a biological source of natural antioxidants. The antibacterial activity of Tafraout oil is satisfactory against the tested bacteria, similarly, its methanolic extract shows a fungal inhibition at the dilution of 1/100. These results indicate that the tested oils represent a potential source of natural antibacterial substances that can be used against pathogenic germs.

The results of the gravimetric and electrochemical studies show that the inhibitory efficacy increases with the increase of the oil and methanolic extract concentration for a value of 2 g/L. The study of the effect of temperature 303-333 K on the behavior of C35 steel in 1.0 M HCl medium with and without inhibitor reveals that the inhibitory efficiencies decrease slightly with increasing temperature but retains its inhibitory character. The parameters E_a , ΔS_a and ΔH_a were estimated and discussed. Indeed, in general, the use of these natural extracts allows to break with the classical means of protection.

Key words: Seeds *lepidium sativum*, Vegetable oils, Antioxidant activity, Biological activity, Corrosion inhibitor, Steel C35.

Sommaire

Introduction générale

Généralités sur les plantes médicinales	17
---	----

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

Partie I

I.	Contexte	23
II.	Constat au Maroc	23
II.1.	Répartition régionale de la plante <i>LS</i> au Maroc	23
II.2.	Intérêt thérapeutique des graines de <i>LS</i>	25
II.2.1.	Thérapie selon les régions du Maroc	25
II.2.2.	Thérapie selon la partie végétative	26
II.3.	Traitements des complications médicales	26
II.4.	Problème de toxicité	27
II.5.	Composition chimique des graines de <i>LS</i>	27

Partie II

I.	Généralités sur les huiles végétales	32
II.	Mode d'extraction des HV	32
III.	Identification des constituants chimiques de la plante	33
IV.	Propriété physico-chimique des HV	35
V.	Intérêt et usage des HVselon leur composition	44
VI.	Données toxicologiques	44

Partie III

I.	Propriétés biologiques	47
I.1.	Propriétés anti-bactériennes	47
I.2.	Quelques travaux antérieurs concernant l'activité biologique	48
I.3.	Principes actifs biologique	48
I.4.	Type de microorganismes	49
I.5.	Méthodes d'évaluation de l'activité biologique	49
II.	Capacité anti-oxydants	53
II.1.	Détermination du pouvoir antioxydant	53
II.2.	Généralité sur les métabolites secondaires	54
II.2.1.	Définition du stress oxydant	54

II.2.2	Classification des antioxydants	55
II.3.	Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires	64
II.4.	Méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydation	66
III.	Inhibiteur de la corrosion	68
III.1.	Généralités	68
III.2.	Introduction à l'étude de la corrosion	68
III.2.1.	Conditions d'utilisation	69
III.2.2.	Catégories des inhibiteurs	70
III.2.3.	Mécanisme d'action	70
III.3.	Détermination des paramètres électrochimiques	72
III.3.1.	Courbes de polarisation	72
III.3.2.	Méthode transitoire : la spectroscopie d'impédance électrochimique	73
III.4.	Détermination des paramètres thermodynamique	73

CHAPITRE II : Protocoles et méthodes.

Partie I

I.	Prélude de <i>Lepidium sativum</i>	78
I.1.	Étude des caractères de l'appareil végétatif du <i>LS</i>	78
I.2.	Description de la plante <i>LS</i>	78
I.3.	Classification taxonomique (<i>Lepidium sativum</i> Linn)	79
I.4.	Partie végétale étudiée	79

Partie II

I.	Collecte et séchage de la plante	82
II.	Méthode d'extraction et conservation	82
III.	Détermination du taux d'humidité	85
IV.	Détermination du rendement d'extraction	85
V.	Analyse des huiles par le couplage (CPG/SM)	85
VI.	Identification des tocophérols	86
VII.	Étude phytochimique des extraits organiques	87

Partie III

I.	Détermination de l'activité antibactérienne	91
I.1.	Méthode par diffusion en milieu de culture gélosée	91
I.2.	Méthode de puits	91
I.3.	Méthode de dilution pour la détermination de (CMI) et (CMB)	92

II.	Détermination de l'activité biologique par méthode la série de dilution	93
------------	--	-----------

Partie IV

I.	Test de DPPH	95
II.	Test de l'ABTS	95
III.	Méthode de FRAP	96
IV.	Analyses statistiques des teneurs métaboliques et l'efficacité anti-radicalaire	96

Partie V

I.	Méthode d'évaluation initiale de la corrosion	98
I.1.	Gravimétrie	98
II.	Evaluation des paramètres électrochimiques	98
II.1.	Mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique	99
II.2.	Polarisation potentio-dynamique	99
III.	Méthodes d'analyse de surface du substrat étudié	100

CHAPITRE III : Résultat et discussion.

Partie I

I.	Calcul du taux d'humidité	103
II.	Calcul des Rendements des huiles et des extraits des <i>GLS</i>	104
III.	Etude de la Composition chimique de l'huile	108
IV.	Screening phytochimique	113
V.	Quantification et caractérisation des métabolites secondaires	115
V.1.	Dosage des polyphenols	116
V.2.	Dosage des flavonoïdes	117
V.3.	Dosage des tanins	117

Partie II

I.	Activite antibactérienne	120
I.1.	Méthode par diffusion en milieu de culture gélosée	121
I.2.	Méthode de puits	125
I.3.	Détermination de CMI et CMB	127
II.	Activité antifongique par la méthode de dilution	128
III.	Conclusion	130

Partie III

I.	Pouvoir anti oxydant	132
I.1.	Test DPPH	132
I.2.	Test ABTS	133
I.3.	Test FRAP	133
II.	Discussion et analyses statistiques	134
III.	Conclusion	136

Partie IV

I.	Etude anticorrosive de l'huile végétale (Région Tafraout)	138
I.1.	Taux de corrosion par perte de masse et efficacité de l'inhibition	138
I.1.1.	Effet de la concentration	138
I.1.2.	Effet de la température	139
I.1.2.1.	Effet de la température sur la vitesse de la corrosion de l'acier au carbone C35	139
I.1.2.2.	Effet de la température sur l'efficacité d'inhibition de l'acier au carbone C35	140
I.2.	Etude électrochimique	142
I.2.1.	Effet de la concentration	143
I.2.2.	Effet de la température	145
I.3.	Calcul thermodynamique	147
I.4.	Mesures par S.I.E	150
I.5.	Effet du temps d'immersion	150
I.6.	Etude de l'effet de la température mesuré par S.I.E	154
I.7.	Isotherme d'adsorption	155
II.	Etude de l'extrait MeOH sur l'acier C35 (Région Tafraout)	157
II.1.	Courbes de polarisation	157
II.1.1.	Effet de concentration	157
II.1.2.	Effet de la température	159
II.2.	Mesures par S.I.E	163
II.3.	Isotherme d'adsorption	164
II.	Analyse par microscopie électronique à balayage de la surface de l'acier C35 par MEB	164
III.	Conclusion	166
IV.	Conclusion générale et perspectives	168
V.	Référence bibliographique	172

Liste des figures

Figure 1 :	Carte géographique situant la plante <i>LS</i> dans le monde	24
Figure 2 :	Structures chimiques de tocophérols trouvés dans les <i>GLS</i>	28
Figure 3 :	Structures chimiques de phytostérols trouvées dans <i>LS</i>	29
Figure 4 :	Constituants chimiques <i>GLS</i>	30
Figure 5 :	Diagramme représentant la composition de l'HV	32
Figure 6 :	Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse	33
Figure 7 :	Principe du spectrophotomètre UV-visible mono faisceau	34
Figure 8 :	Composition des corps gras	36
Figure 9 :	Formule des glycérides	36
Figure 10 :	Formule développée des principaux acides gras des HV	37
Figure 11 :	Boîte gélosée avec des puits pour être inoculés avec des inhibiteurs	50
Figure 12 :	Illustration des étapes de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri	50
Figure 13 :	Schéma d'utilisation d'une microplaque	51
Figure 14 :	Systèmes de défense contre les radicaux libres	56
Figure 15 :	Étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène	56
Figure 16 :	Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque	60
Figure 17 :	Réduction du radical DPPH	67
Figure 18 :	Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	67
Figure 19 :	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe(III) et un antioxydant (AH)	68
Figure 20 :	Différents processus se déroulant à l'interface lors de la corrosion d'un métal en milieu liquide	71
Figure 21 :	Dispositif de mesure d'une courbe de polarisation potentiostatique ET : électrode de travail, ER : électrode de référence, CE : contre électrode	72
Figure 22 :	Détermination des paramètres électrochimiques à partir des droites de Tafel	73
Figure 23 :	Section transversale TS	80
Figure 24 :	Quelques organes végétaux du Cresson alénois	80
Figure 25 :	Situation géographique du Maroc avec les régions étudiées	82
Figure 26 :	Extraction par macération	83
Figure 27 :	Schéma de l'extracteur Soxhlet	84
Figure 28 :	Histogramme montrant le taux en humidité par méthode perte à la dessiccation des <i>GLS</i>	103
Figure 29 :	Rendement en HV récupéré par Soxhlet pour les quatre régions du Maroc <i>GLS</i>	105
Figure 30 :	Rendement moyen des extraits MeOH et EtOH des <i>GLS</i> récupérés par macération pour les quatre régions du Maroc	106
Figure 31 :	Rendements en extrait par différents solvants récupérés par macération des <i>GLS</i> de la région TF	107
Figure 32 :	Histogramme de la composition chimique des acides gras de HV des <i>GLS</i> des régions marocaines	108
Figure 33 :	Histogramme de la composition chimique des stérols de l'HV des <i>GLS</i>	111
Figure 34 :	Histogramme des différents tocophérols des <i>GLS</i> des quatre régions du Maroc	112
Figure 35 :	Photos de quelques tests phytochimiques	115
Figure 36 :	Droite d'étalonnage de l'acide gallique	116
Figure 37 :	Droite d'étalonnage de la quercétine	117
Figure 38 :	Courbe d'étalonnage de la catéchine	117
Figure 39 :	Résultats des zones d'inhibition <i>R equi</i> en mm des échantillons extraites de <i>GLS</i>	122
Figure 40 :	Courbe montrant l'action de l'extrait AE et du <i>PS</i> sur <i>R equi</i>	123

Figure 41 :	Histogramme des résultats de l'action de l'extrait AE et du <i>PS</i> sur <i>R equi</i>	124
Figure 42 :	Photo illustrant l'effet des échantillons de <i>GLS</i> contre <i>R equi</i>	124
Figure 43 :	Photo illustrant l'effet des témoins positifs sur le germe <i>R equi</i>	125
Figure 44 :	Histogramme des zones d'inhibition des souches bactériennes testées en mm par l'effet de l'extrait MeOH	126
Figure 45 :	Photos illustrant l'effet de l'extrait MeOH contre des germes pathogènes par la méthode de puits	127
Figure 46 :	Photos illustrant l'effet de l'extrait MeOH et de HV sur des germes pathogènes à différentes dilutions	130
Figure 47 :	Activités oxydatives DPPH des extraits MeOH et EtOH en moyenne des stations étudiées	133
Figure 48 :	Résultats de l'activité antioxydante ABTS des extraits MeOH et EtOH en moyenne des teneurs des composés de diverses stations étudiées	133
Figure 49 :	Activités oxydatives FRAP des extraits MeOH et EtOH en moyenne des stations étudiées	134
Figure 50 :	Courbe de polarisation cathodique et anodique de l'acier au carbone dans 1.0 M HCl en présence de différentes concentrations de l'HV des <i>GLS</i> à 303 K	143
Figure 51 :	Courbes de polarisation pour l'acier C35 dans la solution HCl 1.0 M à différentes T°	146
Figure 52 :	Courbes de polarisation potentiométrique de l'acier au carbone dans du HCl 1.0 M en présence de 2 g/L de l'HV des <i>GLS</i> à différentes T°	146
Figure 53 :	Tracés d'Arrhenius pour l'acier au carbone dans 1.0 M HCl et 1.0 M HCl + 2 g/L de l'huile végétale des <i>GLS</i>	148
Figure 54 :	Tracés d'état de transition pour l'acier au carbone dans du HCl 1.0 M et du HCl 1.0 M + 2 g/L de l'HV des <i>GLS</i>	149
Figure 55 :	Diagrammes de Nyquist pour l'électrode en acier avec et sans HV des <i>GLS</i> après 30 min d'immersion à 303 K	150
Figure 56 :	Histogramme de comparaison des efficacités inhibitrices obtenues à partir des courbes de polarisation LP et de la spectroscopie d'impédance électrochimique S.I.E pour les différentes concentrations de l'HV des <i>GLS</i> .	152
Figure 57 :	Diagrammes de Nyquist de l'acier au carbone C35 dans du HCl 1.0 M avec une solution de 2 g/L des <i>GLS</i> en fonction des temps d'immersion	153
Figure 58 :	Variation de la résistance de transfert de charge R_{ct} et de la capacité de la double couche C_{dl} en fonction du temps d'immersion	153
Figure 59 :	Diagrammes de Nyquist de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M à différentes T°	154
Figure 60 :	Diagrammes de Nyquist de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M + 2 g/L de l'HV	155
Figure 61 :	Tracés de Langmuir de C_{inch}/θ vs C_{inch} pour l'HV des <i>GLS</i>	156
Figure 62 :	Courbes de polarisation cathodique et anodique de l'acier au carbone dans du HCl 1.0 M en présence de différentes concentrations d'extrait MeOH des <i>GLS</i> à 303 K	158
Figure 69 :	Efficacité d'inhibition E% en fonction de la concentration g/L de l'extrait de MeOH <i>GLS</i> à la température ambiante	159
Figure 70 :	Effet de la température sur les courbes de polarisation de l'acier au carbone dans un milieu HCl 1.0 M en l'absence d'extrait MeOH des <i>GLS</i>	160
Figure 71 :	Effet de la température sur les courbes de polarisation de l'acier au carbone en milieu HCl en présence d'extrait MeOH des <i>GLS</i> à 2 g/L	160
Figure 72 :	Diagrammes d'Arrhenius pour l'acier au carbone dans HCl 1.0 M et HCl 1.0 M + 2 g/L d'extrait MeOH des <i>GLS</i> .	161
Figure 73 :	Diagrammes d'état de transition pour l'acier au carbone dans 1.0 M HCl et 1.0 M HCl + 2 g/L d'extrait MeOH des <i>GLS</i> .	162

Figure 74 :	Diagrammes de Nyquist pour l'électrode en acier au carbone avec et sans extrait MeOH des GLS après 30 min d'immersion à 303 K.	163
Figure 75 :	Tracés de Langmuir de C_{inh}/θ versus C_{inh} pour l'extrait MeOH des GLS	164
Figure 76 :	Micrographies de la surface de l'acier C35, en immersion à 25 °C dans HCl 1.0 M	165
Figure 77 :	Surface de l'acier C35, en immersion à 25 °C dans HCl 1.0 M en présence HV	165
Figure 78 :	Surface de l'acier C35, en immersion à 25 °C dans HCl 1.0 M en présence d'extrait MeOH	166
Figure 79 :	Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration dans HCl 1.0 M	167

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Montrant la thérapie selon les régions du Maroc	25
Tableau 2 :	Montrant la thérapie selon la partie végétative	26
Tableau 3 :	Illustrant les traitements des complications médicales de <i>LS</i>	26
Tableau 4 :	Composition en acides gras des principales HV	38
Tableau 5 :	Teneur en tocophérol de quelques HV	40
Tableau 6 :	Composition en stérol des HV	41
Tableau 7 :	Teneur triterpène de quelques HV	42
Tableau 8 :	Teneur des hydrocarbures de quelques HV	42
Tableau 9 :	Activités antimicrobiennes des principaux polyphénols et les germes sensibles	52
Tableau 10 :	Différentes méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante utilisées	54
Tableau 11 :	Principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques	55
Tableau 12 :	Quelques classes des flavonoïdes	63
Tableau 13 :	Quelques exemples de différents types de terpenoïdes	64
Tableau 14 :	Montrant les effets thérapeutiques des métabolites secondaires	65
Tableau 15 :	Classification botanique de la plante <i>LS</i>	79
Tableau 16 :	Données géographiques des sites de collecte GLS	82
Tableau 17 :	Collection de souches	92
Tableau 18 :	Taux d'humidité de différentes régions des GLS exprimé en %	103
Tableau 19 :	Enregistrement des résultats des rendements, des HV récupérés par Soxhlet pour les 04 endroits du Maroc GLS.	105
Tableau 20 :	Rendement en extrait MeOH et EtOH, des régions étudiées du Maroc GLS	106
Tableau 21 :	Résultats des rendements obtenus par macération de différents solvants des GLS de la région TF	107
Tableau 22 :	Comparaison des rendements	107
Tableau 23 :	Composition chimique en % des AG de l'HV des GLS des régions étudiées	110
Tableau 24 :	Composition chimique en % des stérols de l'HV des GLS des régions étudiées	110
Tableau 25 :	Montrant la teneur des différents tocophérols des GLS des quatre régions du Maroc	111
Tableau 26 :	Résultats des tests phyto-chimiques d'extraits des GLS de la région TF obtenus par macération	114
Tableau 27 :	Teneur en moyenne des phénols, flavonoïdes et tanins en extrait MeOH et EtOH	118
Tableau 28 :	Montrant les résultats de l'effet de l'HV et des extraits des GLS sur le germe <i>R equi</i>	122
Tableau 29 :	Illustre les résultats de l'action de l'extrait AE et du <i>PS</i> sur <i>R equi</i> par rapport à celle non traitée	125
Tableau 30 :	Enregistrement des valeurs, des zones d'inhibition des germes testées en mm par	126

	l'effet de l'extrait MeOH	
Tableau 31 :	CMI des HV des <i>GLS</i> contre trois souches bactériennes.	127
Tableau 32 :	CMB des HV des <i>GLS</i> contre trois souches bactériennes.	127
Tableau 33 :	Enregistrement de l'action des germes testées par la méthode de dilution sur gel de différente dilution par l'effet de l'extrait MeOH et de HV des <i>GLS</i>	128
Tableau 34 :	Action l'extrait MeOH et de HV contre des germes fongiques à différentes dilutions	129
Tableau 35 :	Capacités oxydatives de différentes méthodes des stations étudiées	132
Tableau 36 :	Vitesses de corrosion et les efficacités inhibitrices pour différentes concentration de l'HV des <i>GLS</i> pour la corrosion de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M à 303 K	139
Tableau 37 :	Variation de la vitesse de corrosion de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M en l'absence et en présence d'inhibiteur	140
Tableau 38 :	Variation de l'efficacité inhibitrice de l'acier C35 dans HCl 1.0 M à différentes T° sans et avec addition de différentes concentrations en HV	141
Tableau 39 :	Paramètres électrochimiques de l'acier au carbone à diverses concentrations de l'HV des <i>GLS</i> dans 1.0 M HCl et efficacité d'inhibition correspondante	143
Tableau 40 :	Paramètres de polarisation pour l'acier au carbone dans 1.0 M HCl avec et sans <i>GLS</i> à différentes températures	147
Tableau 41 :	Paramètres d'activation pour l'acier au carbone dans un milieu HCl 1.0 M sans et avec l'ajout de l'inhibiteur à la concentration optimale	149
Tableau 42 :	Paramètres électrochimiques et efficacités inhibitrices de la corrosion de l'acier C35 dans HCl 1.0 M sans et avec addition de différentes concentrations en inhibiteur	151
Tableau 43 :	Paramètres électrochimiques obtenus par S.I.E de l'acier au carbone C35 dans HCl 1.0 M	153
Tableau 44 :	Paramètres électrochimiques et efficacité inhibitrice de la corrosion de l'acier au carbone C35 dans du HCl 1.0 M sans et avec addition de différentes concentrations à 303 K d'extrait MeOH des <i>GLS</i> .	158
Tableau 45 :	Influence de la T° sur les paramètres électrochimiques de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M en l'absence et en présence de 2 g/L de l'extrait MeOH des <i>GLS</i>	161
Tableau 46 :	Paramètres d'activation de l'acier C35 dans un milieu 1.0 M HCl sans et avec addition de l'inhibiteur à la concentration optimale	162
Tableau 47 :	Paramètres électrochimiques du rapport de rendement de l'acier C35 dans HCl 1.0 M sans et avec addition de l'extrait MeOH des <i>GLS</i> à la T° ambiante	163
Tableau 48 :	Récapitulatif comparatif du test anticorrosif par l'HV et l'extrait MeOH	167

Liste des abréviations

AAPH :	2,2-azobis (2-amidinopropane) dichloride.	AINS :	Non stéroïdiens anti-inflammatoires
ABTS:	Acide 2,2-azinobis 3ethylbenzo-triazoline-6sulphonate.	AMH :	Agar de Mueller Hinton.
ADN :	Acide désoxiribonucléique.	AMP :	Adénosine monophosphate.
AFNOR :	Association Française de	A niger :	<i>Aspergillus niger</i> .
		ANSAM :	Agence Nationale desécurité du Médicament etdes produits de santé
		ATB :	Antibiotiques.

	Normalisation.	ATCC:	American Type Culture Collection.
AFSSAPS :	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé remplacée par ANSAM.	ATP :	Adénosine triphosphate.
AG :	Acide gallique.	AR :	Activité radicalaire.
AGMI :	Acides gras mono-insaturés.	ARN :	Acide ribonucléique.
AGPI :	Acides gras poly-insaturés.	BAE :	Extrait éthanolique de la région BenAhmed.
AGS :	Acides gras saturés.	BAM :	Extrait méthanolique de la région BenAhmed.
BHP :	Butylhydroperoxide.	B subtilis :	<i>Bacillus subtilis</i> .
BPL :	Bonne pratique de laboratoire.	C albicans :	<i>Candida albicans</i> .
CA-SFM :	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.	CCM :	Chromatographie sur couche mince.
C_{dl} :	Capacité de double couche.	CFU :	Colony Forming Units.
CEE :	Circuit électrique équivalent.	C_{inh} :	Concentration d'inhibiteur.
CMB :	Concentration minimale bactéricide.	CMI :	Concentration minimale inhibitrice.
C puteana :	<i>Coniophora puteana</i> .	CPG :	Chromatographie en phase gazeuse.
C versicolor :	<i>Coriolus versicolor</i> .	C35 :	Acier au carbone 35.
DO :	Densité optique.	DHA :	Acide docosahexaénoïque.
DMSO :	Diméthylsulfoxyde.	DL50 :	Dose létale à 50%.
DPPH[•] :	Radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.	DPPH :	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
EAA :	Equivalents d'acide ascorbique.	E_a :	Énergie d'activation.
EAG :	Equivalent d'acide gallique.	EC :	Equivalent de catéchine.
E_{corr} :	Potentiel de corrosion.	E coli :	<i>Escherichia coli</i> .
EI :	Efficacités inhibitrices.	EDTA :	Acide éthylène diamine tétracétique.
EtOH :	Ethanol.	ERO :	Espèces réactives de l'oxygène.
E_{corr} :	Potentiel de corrosion.	FeCl₃ :	Chlorure de fer.
GLS :	Graines <i>Lépidium sativum</i> .	FID :	Flame d'ionisation detection
Gram⁺ :	Bactéries à Gram positive sont mises en évidence par une technique :coloration de Gram.	FRAP:	Ferric reducing antioxidant power.
G trabeum :	<i>Gloeophyllum trabeum</i> .	Gram⁻ :	Bactéries à Gram négatif sont mises en évidence par une technique de coloration de Gram.
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène.	ΔH_a :	Enthalpie d'activation.
HO[•] :	Radical hydroxyle.	HCl :	Acide Chlorhydrique.
HV :	Huile végétale.	HPLC:	High performance liquid chromatography.
HVP :	Huile végétale obtenu par	HZE :	Extrait éthanolique de la région

presse.

Haouz

HZM :	Extrait méthanolique de la région Haouz.	IC50 :	Inhibitrice concentration à 50 %.
I_{corr} :	Densité du courant de corrosion.	ISO :	International Standard Organisation.
IR :	Inhibition rapport.	KDa :	Kilodalton.
K :	Unité de base de (kelvin).	LMNE :	Matériaux nanotechnologie et de l'environnement.
MeOH :	Méthanol	MFC :	Minimale fongicide concentration.
MEB :	Microscope électronique à balayage	ML :	<i>Micrococcus luteus</i> .
MLC :	Minimale létale concentration.	MTT :	Methyl thiazoldiphenyl tetrazolium
MS :	Matière sèche.	NADH :	Nicotinamide adénine dinucléotide réduit.
NADPH :	Nicotinamide adénosinedinucléotide phosphate réduite.	NBT :	Nitrobluetetrazolium.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.	O₂^{•-} :	Anion superoxyde.
OH :	Groupe hydroxyle.	O₂ :	Oxygène singulet.
PAM :	Plantes aromatiques et médicinales.	PBS :	Phosphate buffered saline.
<i>P digitatum</i> :	<i>Penicillium digitatum</i> .	<i>P expansu</i> :	<i>Penicillium expansu</i> .
<i>P placenta</i> :	<i>Poria placenta</i> .	ppm :	Partie par million.
PS :	Pénicilline-streptomycine.	PVC :	Poly (chlorure de vinyle).
R² :	Coefficient de corrélation.	R_{ct} :	Résistance de transfert de charge.
R_e :	Résistance d'électrolyte.	<i>R equi</i> :	<i>Rhodococcus equi</i> .
ROO[•] :	Radical peroxyde	ROOH :	Peroxydes organiques.
RME :	Extrait éthanolique de la région Rommani.	RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN¹³C :	Spectre Résonance Magnétique Nucléaire decarbone 13.	RMN¹H :	Spectre Résonance Magnétique Nucléaire du proton.
ΔS_a :	Entropie d'activation.	<i>S aureus</i> :	<i>Staphylococcus aureus</i>
S.I.E :	Spectroscopie d'impédance électrochimique.	SOD :	Super oxyde dismutase.
Th :	Taux d'humidité	TBA :	Acide thiobarbiturique.
TFE :	Extrait éthanolique de la région Tafraout	TC50 :	Toxic concentration.
		TFM :	Extrait méthanolique de la région Tafraout.

INTRODUCTION GENERALE

Généralités sur les plantes médicinales

L'Homme a une longue histoire antérieure remontant à des civilisations anciennes concernant la découverte des plantes médicinales [1]. Dans sa quête de nourriture, l'homme primitif a fait l'essai de toute sorte d'herbes: Certaines l'ont nourri, d'autres l'ont guéri de ses maux, quelques-unes ont entraîné sa mort [2].

L'histoire des plantes médicinales montrent que leur utilisation remonte à 5000 ans avant JC en Chine, 1600 avant JC par les Sumériens, les Babyloniens, les Hébreux et les Égyptiens [3]. L'histoire de la médecine est également marquée par la période du Moyen Âge et des temps modernes par le développement de la médecine alchimique sous une forme relativement secondaire. Les principales périodes de cette histoire sont :

-Au XVIII^{ème} siècle le magnétisme est développé avec les banquets de Messmer.

-Au XIX^{ème} siècle c'est le début de la naturopathie, avec usage thérapeutique des métaux et surtout l'homéopathie.

-À la fin du XIX^{ème} siècle début du XX^{ème} la naturopathie continue à progresser avec le thermalisme et la thalassothérapie. L'iridologie et la médecine manuelle avec l'ostéopathie et la chiropractie sont apparues à cette période [4].

Les anciens herboristes ont réalisé des recherches et des tests sur des plantes, et ceci pendant une longue période, pour élaborer des listes de noms et des formules des espèces utiles comme remède à base de plantes. Ainsi, s'instaure une connaissance des espèces végétales médicinales au cours des temps.

L'ethnobotanique est parmi les disciplines scientifiques qui s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle, elle est considérée comme une science qui permet d'expliquer le savoir-faire populaire en savoir scientifique [5].

Les plantes constituent une source essentielle pour la découverte des médicaments naturels. Et ceci par l'emploi des extraits végétaux traditionnels [6].

La médecine à base des végétaux s'est développée ces dernières décennies suite aux résultats des nouvelles techniques d'analyse, aux tests potentiels à réaliser et au transfert de connaissances et des pratiques qui constituent une richesse d'information pour les générations futures [7].

Les effets indésirables des médicaments modernes, présentent un risque pour la santé humaine. Ceci incite le retour vers la médecine traditionnelle à base de plante, en utilisant toutes ou une

partie des organes végétaux de la plante comme point d'approvisionnement potentiel de guérison, en particulier dans les pays en cours de développement [8].

L'utilisation de plantes comme médicaments est un élément important du système de soins de santé. L'OMS intègre les PAM en tant qu'aliments et en tant que médicaments. Dans les pays en développement, 80% des médicaments prescrits sont à base de PAM ou d'hémi-synthèse [9]. L'accumulation des connaissances et des savoirs sur l'usage de ces plantes s'est faite de génération en génération avec des expériences cumulées des civilisations humaines [8].

Actuellement, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent et il est en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne qui intègre [10] la connaissance traditionnelle qui constitue d'une part un trésor d'informations pour les usagés populaires et d'autre part une ressource inestimable pour l'industrie pharmaceutique [11].

De même, l'OMS recense environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales [12].

En Asie et Pacifique, la médecine traditionnelle se caractérise par un haut niveau de systématisation; sa pratique se fonde sur un cadre théorique complexe fournissant des orientations conceptuelles et thérapeutiques. C'est une histoire très longue et une popularité souvent considérée comme une preuve supplémentaire de son efficacité [13]. On note qu'actuellement, 95% des hôpitaux chinois disposent d'un service de médecine traditionnelle pour des interventions de nature intégrative visant à rétablir l'harmonie et l'équilibre à l'intérieur du corps humain [14].

La médecine Ayurveda (science de la vie dans l'Inde) est une forme de médecine traditionnelle très pratiquée et reconnue. Elle comprend plusieurs spécialités qui utilisent des traitements purificateurs (applications d'huiles médicales, traitements à base de purgatifs, lavements ou saignées) et des traitements apaisants à base de plantes) pour renforcer le système immunitaire. La médecine Ayurveda est aujourd'hui pratiquée dans environ 3000 hôpitaux et 20000 dispensaires, parallèlement à la médecine moderne. Elle dispose également de centres de recherche et de soins spécialisés et est enseignée dans près de 400 établissements d'enseignement supérieur du premier et second cycle [14].

Le kampo (la médecine traditionnelle au Japon) dont des préparations à base de plantes prescrites dans les traitements kampo est remboursé par l'assurance-santé [14].

En Indonésie, la médecine traditionnelle est complètement intégrée aux soins curatifs et aux soins infirmiers depuis 1992 [14].

La législation nationale sur la santé appelle à développer les formes de cette médecine qui se sont révélées efficaces et sans danger, en soulignant le besoin de supervision dans un but de sécurité et d'efficacité [14].

Dans les pays du Pacifique, les méthodes de guérison comprennent des traitements à base de plantes, massage, rituel et incantation [14].

En Amérique latine et Caraïbes, les pratiques médicales traditionnelles reposent sur des conceptions établissant un lien étroit entre la santé humaine et celle de l'écosystème, tant physique que spirituel. La santé dans ces pays dépend, par conséquent, de la continuité de l'accès quantitatif et qualitatif à certaines ressources de l'écosystème tel que plantes, animaux, objets rituels, ainsi qu'odeurs, bruits et paysages saisonniers.

Les plantes médicinales connaissent une répartition et un accroissement d'intérêt remarquable aux États-Unis et en Europe [14]. En effet, dans l'Europe et Amérique du Nord, la médecine moderne est le pilier des systèmes de santé. La population de ces pays a également accès à des traitements traditionnels et alternatifs. L'intérêt croissant suscité à la fois par les traditions et connaissances non autochtones et par certains traitements très anciens d'origine locale est donc plus significatif. La pratique inclut une grande variété de préparations à base de feuilles, d'herbes, de racines, d'écorces et d'autres substances végétales et minérales.

En Europe occidentale, certains pays ont élaboré des outils légaux et des règles précises sur la formation des praticiens, les conditions et le mode d'utilisation des traitements et la délimitation du champ autorisé de leur pratique.

En Afrique, l'utilisation des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle, se fonde sur des théories dans lesquelles l'homme est conçu comme inséparable de son environnement social, naturel, spirituel et cosmique. En effet, la maladie est envisagée et traitée comme un phénomène qui se produit lorsqu'un déséquilibre affecte les puissances vitales régissant la santé, qui va de la divinité la plus puissante aux organismes vivants les plus petits ; le guérisseur se sert à la fois de plantes et de minéraux d'origine locale. En 2004, près de 75% de la population africaine a eu recours aux plantes pour se soigner [15].

L'industrie pharmaceutique elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites [16] par le soutien d'organisations internationales. De nombreux établissements de recherche sont installés dans de nombreux pays entre autre Africains pour étudier les espèces encore inconnues et des médicaments nouveaux sont constamment découverts à partir de nombreuses plantes [15].

Introduction générale

Dans le monde Arabe, connue sous le nom de "médecine traditionnelle islamique", elle est une forme hautement codifiée et systématisée de la médecine hippocratique de l'antiquité, développée par les herboristes, les pharmacologues, les chimistes et les médecins musulmans à l'ère médiévale. Les traitements employés dans la médecine islamique vont de la prise de plantes médicinales à la phlébotomie et à des pratiques spirituelles telles que la prière. En effet, les traitements consistent en préparation à base de plantes associées à l'exécution de rituels visant à apaiser la divinité concernée ou à expulser l'agent qui est à l'origine du trouble. Les pays de cette région se sont efforcés de réglementer l'usage des plantes médicinales. Ils ont mis en place des politiques et des organes pour déterminer l'efficacité des connaissances médicales traditionnelles dans la prévention et le traitement des maladies et faire valoir l'intérêt de les intégrer aux systèmes nationaux de soins de santé [13].

En conclusion de cette introduction, on peut dire que les plantes ont constitué le premier et principal outil thérapeutique à la disposition de l'homme, et depuis des siècles, par plusieurs civilisations et sur tous les continents. Les pharmacopées végétales se sont améliorées grâce aux pratiques empiriques et par la mise en évidence des propriétés des plantes médicinales qui n'ont jamais été démenties par l'usage [17].

CHAPITRE I :
Synthèse bibliographique

PARTIE I : Etude botaniques.

Historie, biochimique de l'espèce étudiée *GLS* et sa distribution dans différentes régions du Maroc. Plus un portrait géographique

I. Contexte

La présente étude est articulée autour des activités chimiques, biologiques et électrochimiques de l'huile et des extraits d'une plante médicinale. Elle vise un aperçu sur la partie expérimentale notamment le matériel et les méthodes mises en œuvre pour l'extraction, l'identification et la quantification des composés biochimiques pour les évaluer scientifiquement. Cette étude concerne également l'établissement d'une analyse comparative des principes actifs des graines de cette plante *Lepidium sativum* (Cresson alénois) issues de différentes régions du Maroc.

Le travail de thèse est articulé autour de trois chapitres. Le premier chapitre, divisé en trois parties, il dressera un état bibliographique. Les techniques analytiques et les dispositifs expérimentaux utilisés au cours de cette étude sont décrits dans le deuxième chapitre, partagé en cinq parties. Le troisième chapitre est divisé en quatre parties comportant résultats et discussions.

II. Constat au Maroc

Au Maroc la situation géographique (deux façades maritimes, montagnes et déserts) fait de notre pays un important réservoir de plantes aromatiques et médicinales PAM dont 15% sont endémiques. Ce patrimoine occupe la 2^{ème} place en matière de biodiversité en Méditerranée après la Turquie. Notre écosystème est la résultante d'un génie humain et d'un savoir-faire très ancien, reposant sur des principes de mode de vie, rural ou pastoral, exigeant une grande familiarité avec les ressources végétales du milieu environnant [18].

Plus encore, un vaste désert, traversé par trois chaînes montagneuses, se traduit par une série complète de bioclimats méditerranéens. Le secteur marocain des PAM est l'un des plus riches au monde, en raison de sa diversité (4 200 espèces dont 800 endémiques), parmi lesquelles près de 500 espèces sont reconnues pour leur usage médicinal et/ou aromatique, ainsi que pour leur potentiel de développement, en particulier pour l'exportation. La production est globalement assurée par les PAM spontanées, alors que les cultivées contribuent uniquement avec environ 2% [19].

II.1. Répartition régionale de la plante *LS* au Maroc.

La plante étudiée, le cresson alénois, est cultivée dans une grande partie des régions tempérées du globe, souvent de culture passagère, elle se rencontre parfois comme mauvaise herbe dans les

champs de Lin. Cette forme linicole est simplement accidentelle et elle s'installe et prospère dans les champs de Lin [20].



Figure 1 : Carte géographique situant la plante *LS* dans le monde [21]

En effet, la culture de *LS* est transmise d'un peuple à un autre, depuis les temps préhistoriques, à travers la culture du Lin, de manière inaperçue et anonyme, dans plusieurs pays de l'Europe. La plante est reconnue plus tard comme plante potagère de valeur et remise en culture. La caractérisation botanique vient à l'appui pour distinguer la plante cultivée sous la forme linicole à celle des formes spontanées par la silicule et les graines [22].

L'espèce *LS* est polymorphe et provient principalement des régions des hauts plateaux de l'Éthiopie et l'Érythrée, cultivée en Inde, en Chine, en Amérique du Nord et dans des parties de l'Europe [23,24]. Elle est décrite comme une herbe officielle dans la pharmacopée ayurvédique de l'Inde [25]. Les attributs agronomiques montrent que cette plante pousse en insémination aride avec des sols peu fertiles [26]. Traditionnellement bien connue et largement utilisée en Afrique, en Chine, et dans d'autres pays d'Extrême-Orient [27].

Au Maroc, les études ont montré la présence de *LS* dans la région Rif, du Maroc oriental, du Maroc occidental, du Haouz, de la région Chaouia et Souss-Massa-Daraa.

II.2. Intérêt thérapeutique des graines de *LS*.

Nos régions disposent de richesses naturelles caractérisées par un cadre géographique très varié composé par des zones naturelles : Deux mers, des reliefs se composent de plaines et de plateaux avec de petites collines éparpillées. Le sol est généralement formé par une terre arable et aussi

des ressources en eaux souterraines importantes à différentes profondeurs. Le climat est du type méditerranéen, les températures varient en fonction de l'altitude et de l'éloignement par rapport à l'océan. Par conséquent nous avons un écosystème qui offre une très grande diversité écologique et floristique.

II.2. Intérêt thérapeutique des GLS.

Le profil pharmacologique de la plante *LS*, est principalement utilisé comme anti inflammatoire, antipyrétique, analgésique, antidiabétique, facteur coagulant, antihypertenseur, hépato protecteur, antiasthmatique, procinétique, laxatif, hypercholestérolémies. La plante est aussi utilisée pour la guérison des fractures et pour soulager le hoquet. Elle est également utilisée pour son activité antioxydante [28].

En Chine et d'autres pays d'Extrême Orient, les GLS sont utilisées pour le traitement des coliques abdominales, asthénie sexuelle, pleurésie et l'hydropisie [29]. Une enquête dans différentes régions de l'Arabie saoudite a montré que les GLS sont couramment adoptées comme fébrifuges, antirhumatismales, menstruelles et abdominales [30]. Dans plusieurs pays africains les GLS sont mâchées pour guérir la maladie de la gorge, l'asthme, des maux de tête et sont utiles pour la diurèse et dans les troubles menstruels, remèdes pour l'utérus, les tumeurs, les polypes nasaux et le cancer du sein [31]. Autres propriétés des GLS, telles qu'antibactériennes [32], hypothermie [27] et hypoglycémique [33]. La consommation des GLS augmente le gain de poids en acide linoléique qui pourrait donner des avantages nutritionnels [34].

Au Maroc, les résultats des études réalisées sur cette plante sont résumés dans les tableaux 1, 2 et 3.

II.2.1. Thérapie selon les régions du Maroc.

Tableau 1 : Montrant la thérapie selon les régions du Maroc

Régions	Méthodes	Prescriptions
Zaër (Maroc Occidental) [35]	Les GLS en infusion dans du lait chaud ou trituré dans du miel.	La toux, l'asthme, bronchites, maux de ventre, l'impuissance, stérilité.
Rif du Maroc [36].	Les GLS de décoction ou mélange avec le jaune d'œuf ou Nigelle.	La grippe, douleurs des règles et stomachiques.
Gharb du Maroc [37].	Une bouillie de lait contenant le Cresson alénois.	-Fortifiant après l'accouchement et meilleur purificateur de sang. -Contre les douleurs des articulations et les maladies de l'utérus.
	Les GLS de Cresson mélangé avec l'huile d'olive chaude.	Comme cataplasmes contre les abcès.
Oriental [38].	Par macération ou cuit	Les douleurs stomachiques.

Agadir [39].	Associée en décoction des <i>GLS</i> dans le lait ou mélangée avec le jaune d'œuf.	La grippe.
	Associe à la poudre de graine de <i>Nigella sativa</i> (Haba sawda) et la graine de <i>Cistus creticus</i> (Irgle).	Aphrodisiaque chez les deux sexes et douleurs des règles.
Haouz [37]	Macération des <i>GLS</i> dans le lait fermenté pendant une heure.	-Efficace contre le diabète. -Il est conseillé de contrôler la glycémie après chaque traitement à cause du risque de labaisse rapide de la glycémie.
Région Meknes [40].	Les <i>GLS</i> .	Badigeonnage dermatologique, rhumatologie, fièvre.
Ben-Mellal [41].	Les <i>GLS</i> triturées dans le miel.	La toux et des angines.
Tan-Tan (Maroc Sahara) [42].	Une fusion des <i>GLS</i> et des graines de <i>Nigella sativa</i> , moulues et mélangées au miel.	Contre les calculs rénaux.

Ce tableau montre que *LS* a une utilisation variée dans toutes les régions du Maroc.

Nous remarquons d'après ce tableau que *LS* est utilisé différemment selon les régions. La façon d'administrer le produit et la maladie à traiter sont différentes d'une région à l'autre. Aucune interprétation n'est donnée quant à cette différence entre les régions.

II.2.2. Thérapie selon la partie végétative.

Tableau 2 : Montrant la thérapie selon la partie végétative

Organes	Traitements
Graines	-L'élargissement chronique du foie et de la rate. Compléments à carminatifs purgatifs. -Astringents, myogéniques, dépuratifs, rubéfiants, galactagogues, emménagogues, toniques, aphrodisiaques, diurétiques, cataplasme pour entorse, lèpre, maladie de la peau, dysenterie, la diarrhée, splénomégalie et asthme [24].
Feuilles	-Stimulantes douces et un diurétique. Maladiesscorbutiques. Plaintes du foie [24]. Cataplasmes [40].
Racines	-Amères, âcres. Syphilis secondaire et ténésme [43].

Toutes les parties de la plante sont utilisées. On remarque que les traitements concernent aussi bien les différents organes de l'organisme aussi bien que la peau et les infections biologique.

II.3. Traitements des complications médicales.

Tableau 3 : Illustrant les traitements des complications médicales de *LS*.

Complications	Traitement
L'avortement.	<i>GLS</i> bouillies avec du lait [44]
Indigestion, diarrhée et la dysenterie.	Poudre de graines mélangées avec du sucre fin [44]
La débilité générale	Préparation à base de graines, le beurre et le sucre
Tonique nutritif pour soulager les flatulences et	Bouillir les graines dans le lait de manière à former une

Synthèse bibliographique

augmentent la sécrétion de lait chez les femmes couchées.	mince douce masse et en y ajoutant du sucre ou Jaggery suffisante pour en faire un produit de confiserie [44].
Une réduction significative dans la quinoléine qui entraîne des dégâts de l'ADN dans les cellules du côlon et du foie dans la gamme de 75-92%.	Prétraitement des racines avec des jus <i>LS</i> 0,8 ml et de ses mandants métabolisés tel que glucotropaeoline, benzylisothiocynate 70mg/kg pendant trois jours consécutifs [45].
Augmenter le lait maternel, l'endurance sexuelle, et la rémanence sexuelle.	Une cuillère à café pleine de <i>GLS</i> bouillies dans 6 onces d'eau pour 1/2 h et la décoction avec une cuillerée de soupe de miel est Givenas [46].
Le soulagement des douleurs inflammatoires et rhumatismales.	<i>GLS</i> sécrasées, mélangées avec du jus de citron vert [47].

Le tableau ci-dessus montre un nombre d'utilisations de cette plante aux multiples vertus. Cette étude montre l'intérêt porté à cette plante sa valorisation scientifique constituerait une forte valeur ajoutée aux régions dans lesquelles elle se trouve.

II.4. Problème de toxicité

Comme toute drogue, les plantes peuvent constituer de sérieux poisons quand elles sont utilisées de façon anarchique. D'après le centre antipoison au Maroc, plus de 50% des intoxications relevées sont dues à l'utilisation des plantes [27]

Les études de toxicité d'extraits MeOH et extraits EtOH de *GLS* chez la souris n'ont montré aucun symptôme de toxicité ou de mortalité [27]. Mais les graines prises en grande quantité peuvent provoquer des irritations des muqueuses [37].

L'extrait de *GLS* ne produit aucun effet indésirable ou mortalité chez la population étudiée. Ces découvertes suggèrent une large marge de sécurité de l'utilisation de la plante pour le traitement de diverses maladies. Le traitement chronique de souris avec une dose de 100 mg/kg par jour pendant 90 jours n'a pas non plus d'effet délétère. On peut dire que *LS*, en plus d'avoir une grande diversité pharmacologiques, ne provoque aucun effet toxique sur les animaux [27].

II.5. Composition chimique de *LS*.

Des recherches sur la composition des *GLS* nous permettent de révéler des quantités considérables de métabolites telles que protéines 25%, lipides 14 à 24%, glucides 33 à 54% et cellulose brute 8% [48]. Les *GLS* ont montré aussi des pourcentages élevés en acides gras, dont 42.23% poly-insaturés et 39.62% mono-insaturés [49]. D'autres études ont souligné l'existence d'alcaloïdes comme la lépidine, la glucotropaeoline [50],[45]. On note également la présence de plusieurs éléments : carotène, cellulose, calcium, phosphore, fer, thiamine,

riboflavine, niacine, acide urique, acides palmitiques, béhénique, lignocérique amin e, isothiocyanate de benzyle, cyanure de benzyle et stérol [50]. D'autres études phyto-chimiques ont signal e l'existence des composés tels que des saponines et des anthraquinones [5] et des quantités importantes en (α β γ δ)-tocophérols (figure 2), en plus des stéroïdes (les cucurbitacines et les cardenolides) [51]. La teneur en acides est détectée en quantités significatives comme l'arachidique, l'ascorbique, linol eque, l'ol eque, et le stéarique [52].

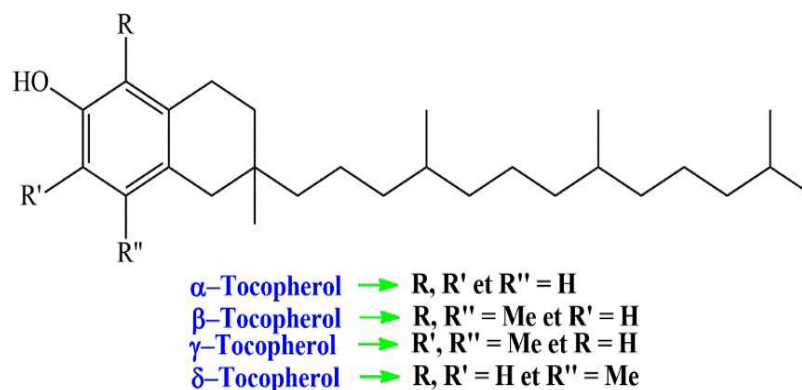


Figure 2 : Structures chimiques de tocophérols trouv es dans les *GLS* [163]

Les phytostérols rep er es dans l'huile des *GLS* (voir figure 3) contiennent le sitostérol, le campestérol, l'avenast erol, le cholestérol, le stigmastérol dihydrolanost erol-amyrin, comprenant aussi les constituants restant stéroïdiens [53].

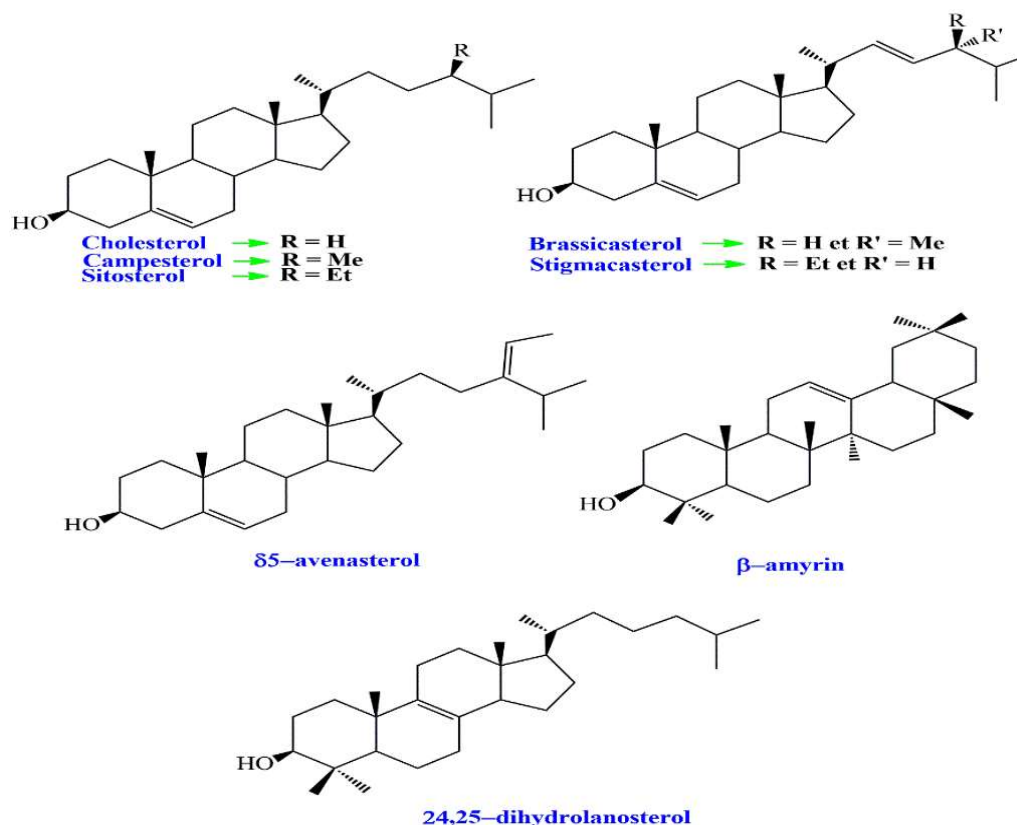


Figure 3 : Structures chimiques de phytostérols trouvées dans *LS* [53].

L'isolement phyto-chimique par le fractionnement du contenu en glucosinolates des *GLS* a permis l'identification de la glucotropaeolin et le 2-phényléthyl glucosinolate, ainsi que la présence de 2-éthyl butyle glucosinolate, méthyl glucosinolate et butyle glucosinolate [54]. De même des essais sur des extraits éthanoliques des *GLS* ont révélé la présence de glycosides, des acides aminés comme la glutamine, la cystéine [55], des protéines [56]. Les tannins ont été isolés pour leur rôle important comme antioxydant puissant et stable [57]. Notons aussi la découverte des coumarines, des glycosides de soufre et des triterpènes dans les *GLS* [174,54].

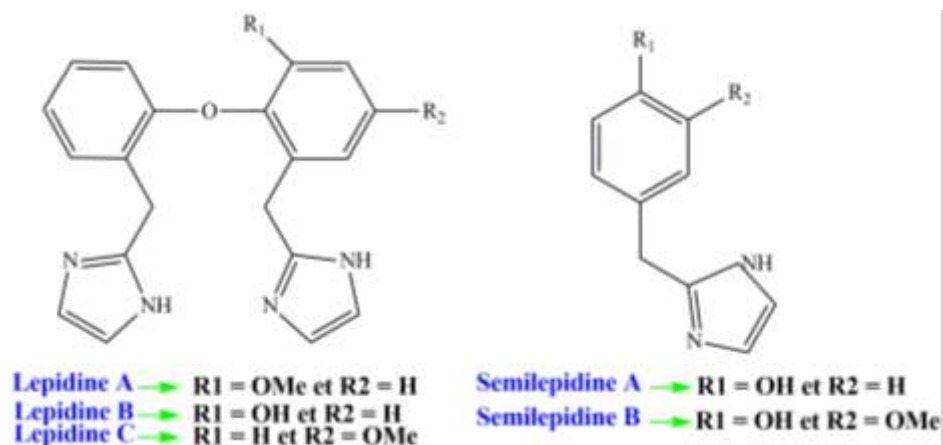


Figure 4 : Constituants chimiques *GLS*.

Des oligo-éléments tels que le nickel, le cobalt et l'iode, et de diverses vitamines telles que la vitamine A ont été révélés dans les *GLS* comme éléments chimiques [58]. Une autre enquête phyto-chimique préliminaire a été entreprise pour l'identification du type de constituants chimiques présents dans les graines, a montré l'existence de l'inuline, mucilage et triterpénoïde [46]. Et parmi les polysaccharides des *GLS* sont identifiés: l'acide L-arabinose, D-galactose, le L-rhamnose, l'acide D-galacturonique, le D-glucose et le benzyle thiocyanate [59].

PARTIE II : Quelques generalites

Rôles et propriétés des huiles végétales, méthodes d'extraction, identification chimique et biologique des composés aromatiques, les normes acceptables.

I. Généralités sur les huiles végétales

Les huiles végétales représentent une source intéressante d'acides linoléiques (C18: 2 n-6 ou oméga 6) et alpha linoléique (C18: 3 n-3 ou oméga 3).

Ces AGPI sont dits essentiels, car ils sont indispensables pour le bon fonctionnement du corps humain, ils doivent donc être apportés par l'alimentation. En effet, les acides linoléiques et alpha linoléiques sont les deux précurseurs respectifs des acides gras oméga 6 et oméga 3, tels que l'acide arachidonique (C20 :4n-6), l'acide eicosapentaénoïque (C20 :5n-3) et l'acide desoxyhexaénoïque (C22 :6n-3). Ces derniers jouent un rôle essentiel (agrégation plaquettaire, inflammation, immunité, etc...).

Les huiles végétales sont également la source principale de la vitamine E.

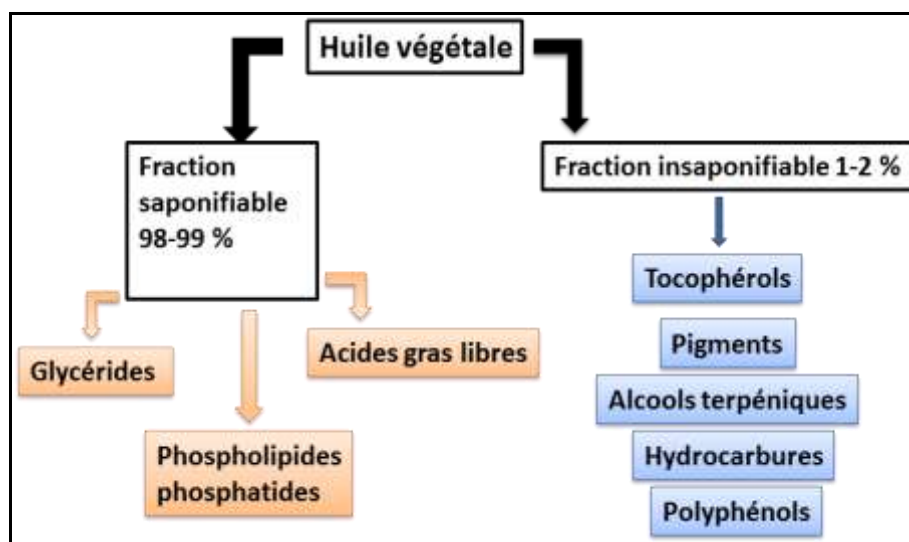


Figure 5 : Diagramme représentant la composition de HV [32].

II. Mode d'Extraction des HV.

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits à haute valeur ajoutée présents dans les plantes.

Le Soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide utilisée au laboratoire. [60]. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute 100–150°C, ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants [61]. Les autres inconvénients 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 l'étape postérieure de filtration ou de

centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait [60]. Dans la catégorie « techniques nouvelles » on peut citer l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction accélérée par solvants et l'extraction avec des fluides supercritiques.

Il existe également d'autres techniques extractives, moins répandues, comme, par exemple, l'extraction solide-liquide à moyenne pression.[61,62].

III. Identification des constituants chimiques de la plante.

Chromatographie en phase gazeuse GC est utilisée pour l'analyse quantitative et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS pour l'analyse qualitative.

Elles permettent, en plus de connaître très exactement la composition chimique, la recherche d'éventuelles traces de produits indésirables qui peuvent polluer certains produits dans différents domaines, agroalimentaire entre autres [63].

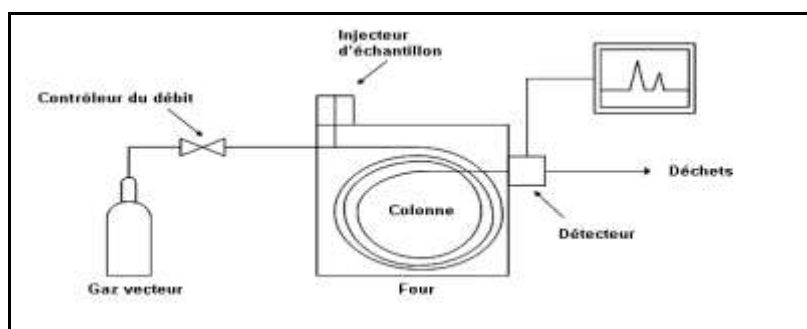


Figure 6 : Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse.

Autre méthode d'identification, c'est la spectrophotométrie (voir figure 7), qui permet l'analyse quantitative et qualitative par la mesure de l'absorbance d'une substance chimique donnée, généralement en solution. La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le soluté. L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution comme :

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right) \quad (1)$$

La relation de Beer-Lambert décrit que, à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration et à la longueur du trajet optique (distance sur laquelle la lumière traverse la solution). Alors, pour une solution limpide contenant une seule substance absorbante :

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} LC \quad (2)$$

A_{λ} : est l'absorbance de la solution pour une longueur d'onde λ ;

C : en mol.m^{-3} est la concentration de la substance absorbante ;

L : en cm) est la longueur du trajet optique ;

λ : en $\text{m}^3.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ est le coefficient d'extinction molaire de la substance absorbante en solution. Il rend compte de la capacité de cette substance à absorber la lumière, à la longueur d'onde λ . La lumière monochromatique incidente d'intensité I_0 traverse alors une cuve contenant la solution étudiée et l'appareil mesure l'intensité I de la lumière transmise.

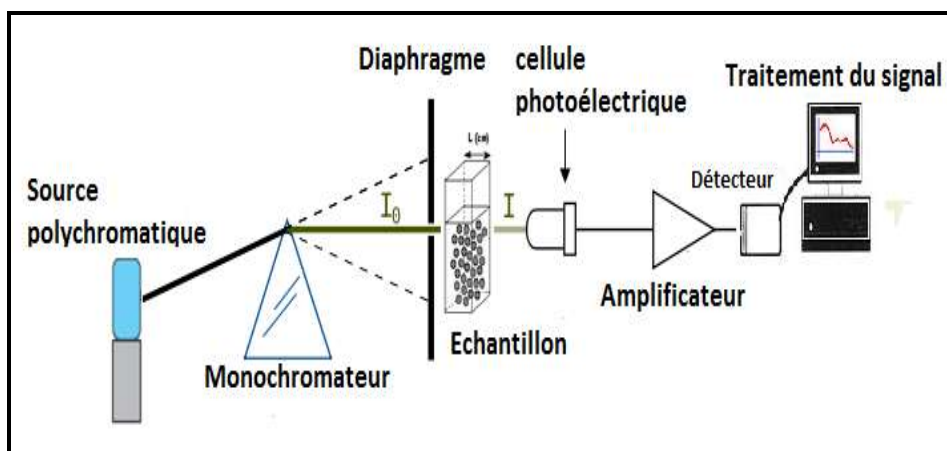


Figure 7 : Principe du spectrophotomètre UV-visible mono faisceau.

Analyse par HPLC pour l'identification des tocophérols.

Les tocophérols sont des composés amphipathiques et liposolubles qui s'oxydent facilement lorsqu'ils sont soumis à la chaleur, à la lumière et à des conditions alcalines [64]. Ils consistent en un cycle chromanol polaire et une chaîne latérale hydrophobe à 16 atomes de carbone attaché au cycle via l'atome C-2. Les tocophérols ont des chaînes latérales phytyl, se présentent sous la forme de quatre vitamers (α , β , γ et δ) qui diffèrent par le nombre et la position des groupes méthyle dans le cycle chromanol [65]. Les tocophérols sont largement distribués dans les plantes supérieures (les huiles végétales et les noix) [66]. En 2000, l'activité de la vitamine E était

limitée à l' α -tocophérol avec une configuration 2R, car d'autres formes ne se convertissent pas en α -tocophérol et sont mal reconnues par la protéine de transfert [67]. La tâche physiologique principale du 2R- α -tocophérol est d'éviter les symptômes de carence en vitamine E, à savoir les anomalies neurologiques. Ils sont des antioxydants, réduisant le stress oxydatif et retardent la progression de diverses maladies dégénératives telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer. Ils régulent la signalisation cellulaire, la prolifération cellulaire et l'expression des gènes [68]. La propriété chimique la plus importante des tocophérols est leur activité antioxydante et toutes leurs activités biologiques sont considérées comme résultant de leur capacité à protéger les lipides poly-insaturés de l'oxydation [69]. Les tocophérols sont des antioxydants primaires qui récupèrent les radicaux peroxydes lipidiques en donnant des atomes d'hydrogène et réagissent avec les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote [70]. Bien que les tocophérols protègent les lipides de l'oxydation par des réactions similaires *in vivo* et *in vitro*, les activités antioxydantes peuvent être très différentes. *In vivo*, l' α -tocophérol semble être l'antioxydant majeur et le plus efficace pour briser la chaîne, principalement parce qu'il fait partie d'un réseau d'antioxydants, notamment l'acide ascorbique, le glutathion et l'ubiquinol. Les radicaux tocophéroxy peuvent être régénérés en tocophérols *in vivo*, alors que le recyclage *in vitro* ne se produit pas [71].

IV. Propriété physico-chimique des huiles végétales.

Les huiles végétales sont principalement composées de triglycérides 90-99% eux-mêmes essentiellement constitués d'acides gras 90-95%, de glycérol 3-5%, et de constituants mineurs naturels 1-5% regroupant des composés de structures variées telles que les stérols, les tocophérols, les caroténoïdes ou les phospholipides 0.1 à 0.2% [72].

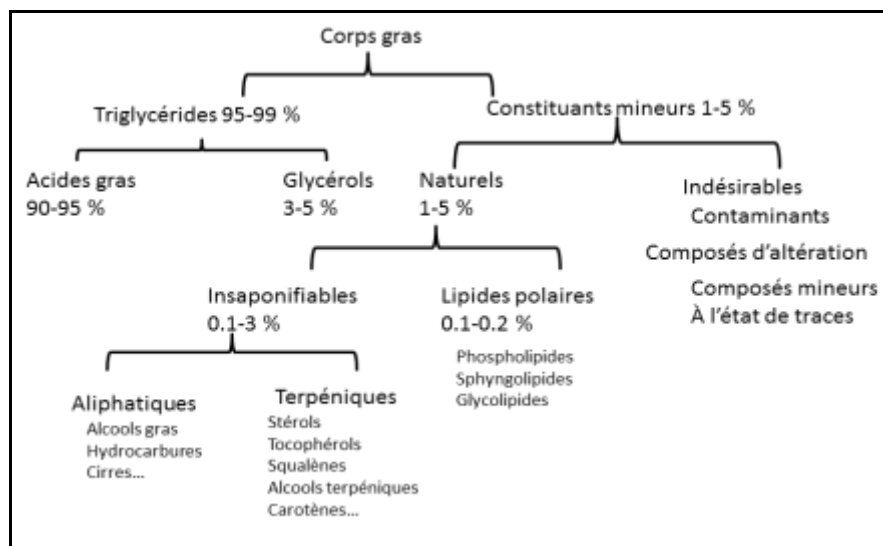


Figure 8 : Composition des corps gras [73].

Composés majoritaires des huiles végétales.

Lipides simples.

Les glycérides sont des esters d'acides gras et de glycérol, ils sont très hydrophobes insolubles dans l'eau. L'estérification des trois groupements hydroxyles du glycérol avec les acides gras forme des triglycérides, il y'a également les di-glycérides, et les monoglycérides [74].

Les triglycérides ou triacylglycérols sont des glycérides. Ils représentent la partie majoritaire des graisses alimentaires. Chaque huile est caractérisée par la composition en acides gras de l'espèce végétale dont elle est extraite.

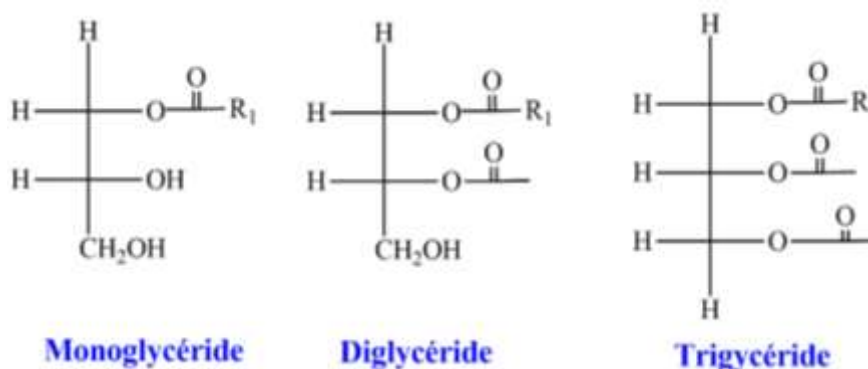


Figure 9 : Formule des glycérides.

Acides gras.

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée. Ce sont les composants majoritaires des glycérides sur le plan pondéral, les acides gras connus sont extrêmement nombreux, en particulier dans le règne végétal [75].

Les huiles végétales se définissent essentiellement par leur composition en acides gras [76] qui est très différente d'une huile à l'autre. Les huiles végétales n'ont cependant pas une composition fixe, car elles varient selon la génétique, la culture des plantes et les saisons. Ils se classent en trois groupes [72].

–les acides gras saturés, chaînes hydrocarbonées sans insaturation (ou double liaison), avec principalement des longueurs de chaîne comprises entre 14 (acide myristique) et 18 atomes de carbone (acide stéarique).

–les acides gras mono-insaturés, chaînes hydrocarbonées comportant une double liaison. Le principal représentant de cette série est l'acide oléique (C18 : 1, n-9 ou ω 9).

–les acides gras poly-insaturés, chaînes hydrocarbonées comportant plusieurs doubles liaisons (Figure10). Les acides linoléiques (C18: 2 n-6 ou ω 6) et α -linoléique (C18: 3 n- 3 ou ω 3) en font partie et représentent les acides gras essentiels et indispensables [77].

Les huiles végétales peuvent ainsi être regroupées en fonction de la nature de leurs acides gras majoritaires (ou spécifiques): oléiques, linoléiques ou α -linoléiques [76].

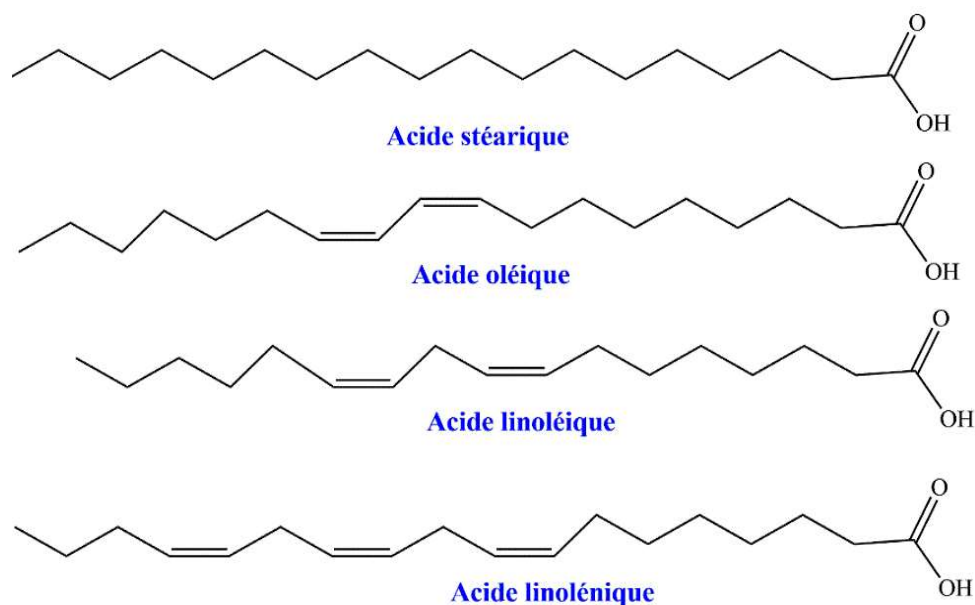


Figure 10 : Formule développée des principaux acides gras des HV

Tableau 4 : Composition en acides gras des principales HV.

Acides gras	Tournesol ^a	Soja ^a	Colza ^a	Noisette ^b	Noix ^b	Arachide ^b	Olive ^c	Argane ^d
A. Palmitique C16 : 0	5-7	8-13	1-5	5-9	6-8	8-13	8-14	11.5-15
A. Margarique C17 : 0	≤0.1	-	-	-	<0.1	<0.1	<0.2	<0.1
A. Stéarique C18 : 0	4-6	2-5	1-2	1-4	1-3	3-4	3-6	4.3-7.4
A. Arachidique C20 : 0	<1	<1.2	<1	<0.3	<0.3	1-2	<0.5	0.3-0.5
A. Béhénique C22 : 0	<1	<0.5	<0.5	-	<0.2	2-4	<0.9	<0.2
A. Ligocérique C24 : 0	-	-	-	-	-	1-2	-	-
A. Gras Saturé	11-15	12-20	2-8	6-13	7-11	15-25	13-22	14-24
A. Palmitoleique C16 : 1 n-7	<0.4	<0.2	<1	<0.3	<0.2	<0.3	<1	<0.1
A. Oléique C18 : 1 n-9	15-25	17-26	55-62	66-83	14-21	48-66	61-80	43-49.1
A. Gadoléique C20 : 1 n-11	<0.5	<0.4	1-2	-	<0.3	1-2	<0.4	0.4-0.5
A. Erucique C22 : 1 n-9	-	-	<1	-	-	-	-	-
A. Monoinsaturé	16-26	18-27	56-65	66-83	14-21	49-68	62-81	43-51
A. Linoleique C18 : 2 n-6	62-70	50-62	18-22	8-25	54-65	14-28	3-14	28-36
A. Linoléique C18 : 2 n-3	<0.2	4-10	8-10	<0.6	9-15	<0.3	<1	<0.4
A. Gras Poly-insaturés	62-70	54-72	26-32	9-26	63-80	14-28	4-15	28-37

Source a : CODEX 2003 ; b : Lecerf 2011 ; c : COI 2009 ; d : SNIMA 2003

--Cérides : Ce sont des esters d'acides gras et de mono (éventuellement di) alcools.

--Stérides : Ce sont des esters d'acides gras et de stérol [78].

Composés minoritaires des HV.

Les composants mineurs dans les huiles végétales représentent 1 à 5%, ils sont constitués d'éléments très variés [79]. Ces composés, bien que mineurs quantitativement, jouent un rôle nutritionnel de première importance. Les composés mineurs sont constitués de deux fractions : la fraction insaponifiable et la fraction soluble. Les tocophérols, stérols et caroténoïdes appartiennent à la fraction insaponifiable, dénommée ainsi, car elle ne peut pas réagir avec une base pour donner du savon. Les composés mineurs de la fraction soluble sont innombrables et sont responsables, non seulement d'une partie des propriétés des huiles, mais également de leur goût et de leur trouble. Une grande partie des propriétés biologiques des huiles, et en particulier de l'huile d'Argane et l'huile d'Olive, sont attribuées à la partie insaponifiable [76,80].

Lipides complexes.

-Phospholipides.

Les phospholipides sont des esters du glycérol dont les positions sn-1 et sn-2 sont estérifiées par des AG et la fonction alcool en sn-3 est naturellement estérifiée par un acide phosphorique, lui-même associé à un sucre (inositol) ou une amine (choline, éthanolamine, sérine) [75].

-Insaponifiables.

L'insaponifiable est constitué de composés qui, après hydrolyse basique (saponification), sont très peu solubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques (tel l'hexane) des corps gras [81].

--Stérols :

Les stérols constituent la fraction la plus importante de l'insaponifiable de 30 à 60%. Ce sont des composés tétracycliques le plus souvent de 27 ou 28 atomes de carbone, ils sont présents sous formes libres ou estérifiés. Les deux stérols les plus importants du règne végétal sont le β -sitostérol et le sigma-stérol [81].

--Tocophérols :

Les tocophérols sont au nombre de 4 (α , β , γ , δ -tocophérols), ils jouent le rôle d'antioxydants naturels, ce qui explique la bonne résistance des huiles végétales au phénomène de rancissement. Parmi les tocophérols, l' α -tocophérol ou vitamine E est doté de l'effet antioxydant le plus puissant [81].

Les tocophérols désignent un ensemble de molécules composé d'un noyau 6-OH-chromane, et d'une chaîne latérale à 16 atomes de carbone, de structure isoprénique [82,83]. La chaîne

carbonée existe sous deux formes : une forme comprenant trois insaturations : ce sont les tocotriénols et la forme totalement saturée qui caractérise les tocophérols.

Ces tocophérols participent à la conservation des huiles et possèdent aussi certaines propriétés thérapeutiques et antioxydantes grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres [84]. En plus, ces composés peuvent constituer un critère analytique pour le contrôle de la pureté d'une huile.

Tableau 5 : Teneur en tocophérol de quelques huiles végétales.

	R ₁	R ₂	R ₃
α -tocophérol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β -tocophérol	CH ₃	H	CH ₃
γ -tocophérol	H	CH ₃	CH ₃
δ -tocophérol	H	H	CH ₃

L'huile de *LS* est remarquablement riche en tocophérols (2010). Elle contient 1747.10 mg/kg de [85,86]. Cette valeur est comparée à la teneur en tocophérols de quelques HV comme l'huile d'Olive 300 mg/kg, l'huile de Pépins de raisin 700 mg/kg ou l'huile de Maïs 900 mg/kg [85,87]. Cette comparaison, montre que l'huile de *LS* est riche en γ - tocophérols. Cette donnée conjuguée à sa faible teneur en acide linoléique, très sensible à l'oxydation, lui confère une grande stabilité pendant la conservation [80,87]. En effet le gamma-tocophérol a montré une activité d'antioxydante très élevée *in vitro* [87,88].

Le pouvoir vitaminique des tocophérols est lié à la teneur en α -tocophérol (vitamine E), ce tocophérol est le plus fréquent dans la nature et le plus actif biologiquement. Les β et γ -tocophérols ont une activité vitaminique réduite (respectivement 30 et 15% environ de l'activité de la forme alpha) le δ -tocophérol est pratiquement inactif, mais c'est le γ -tocophérols qui a l'activité antioxydante la plus élevée [72,88].

C'est pourquoi il est convenu d'exprimer la teneur en vitamine E en α -tocophérol équivalent (α -Tocophérol). Il existe aussi dans la nature des composés voisins des tocophérols, les tocotriénols (α , β , γ , et δ) dont deux (α et β) possédant une certaine activité vitaminique (respectivement 20 et 5% environ de l'activité de la forme alpha tocophérol) [72].

Phytostérols.

Les phytostérols présentent une analogie de structure avec le cholestérol. En effet, ce sont des molécules complexes comportant une fonction alcool, trouvée à l'état libre ou estérifiée. Ces alcools dérivent du noyau stéroïde constitué de 4 cycles dont l'hydroxyle est en position trois et d'une chaîne latérale [68]. Les graisses d'origine végétale contiennent des phytostérols tels que le Beta-sitostérol présent dans toutes les huiles végétales (Olive, Soya, Tournesol, Colza.

Synthèse bibliographique

Arachide...), le D7-stigmastérol trouvé en quantités significatives dans l'huile de tournesol, le brassicastérol dans les huiles de Colza.

Dans l'huile d'olive, le principal stérol est le beta-sitostérol, représentant jusqu'à 90-95% du total [89]. Cependant, le campéstérol et le stigmastérol comptent des valeurs inférieures à 4%.

Quant à l'huile *LS*, elle contient une fraction stérolique originale, car elle est constituée de delta 7 stérols. Elle est composée principalement du spinastérol et du schotténol, deux stérols minoritaires ont été identifiés, également sur la base de leur spectre de masse. Il s'agit du stigmasta-8,22-diène et du stigmasta-7,24-28-diène (ou Δ -7-avénastérol). Leur proportion varie entre 3.2% et 7% du mélange des stérols totaux [89,90]. Cette spécificité constitue l'empreinte analytique pour détecter des mélanges frauduleux avec des huiles alimentaires par dosage du campéstérol [90].

Pour la quantité des stérols totaux, le Tableau 6 présente les gammes de variation de concentration en stérols dans l'huile de différentes cultures. Le Colza renferme le maximum de phytostérols totaux 540-880 mg/100g.

Tableau 6 : Composition en stérol des huiles végétales

Stérols	Tournesol ^a	Colza ^a	Soja ^a	Palme ^a	Sésam ^b	Arachide ^b	Noisettes ^b	Olive ^c	Argane ^d
Stérols									
Teneur mg/100g	325-515	540-880	250-418	30-70	539-636	240-380	75-195	>100	170-250
Composition (%)									
Cholestérol	<0.4	<4	<1	2.6-6.7	<0.3	<0.2	<1	<0.5	<0.4
Brassicastérol	-	13-17	-	ND	<0.1	-	<0.5	<0.1	<0.1
Campestérol	8-11	28-40	19-23	18.7-27.5	18-19	10-16	4-7	<4	<0.4
Stigmastérol	7-10	<1	17-19	8.5-13.9	6-7	8-15	<2	<Camp	-
Stigma-8-22-dien-3b-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	3.2-5.7
Schottenol	-	-	-	-	-	-	-	-	44-49
β -sitostérol	58-64	45-61	47-59	50.2-62.1	59-62	52-60	82-88	93	-
Spinastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	34-44
Δ 5-avénastérol	2-7	1-3	2-4	ND-2.8	10-11	-	2-5	-	-
Δ 7-stigmastérol	9-14	1-3	1-3	0.2-2.4	0.6-0.8	15-22	1-3	-	-
Δ 7-avénastérol	4-6	1-3	1-2	ND-5.1	0.8-1.1	-	1-6	-	-

Alcools triterpéniques.

Ils sont particulièrement importants du point de vue biologique.

Tableau 7 : Teneur triterpène de quelques huiles végétales [82].

	Argane	Olive	Tournesol	Colza	Noisette	Sesam
Triterpène (mg/100g)	170-200	100-150	100	76-108	-	180

-: non quantifié

Composés phénoliques.

Les polyphénols attirent de plus en plus l'attention des chercheurs et des industriels en raison de leur importance. En effet, jusqu'à maintenant, on considérait ces molécules comme intéressantes pour l'organisme, tant au niveau nutritionnel que pour la santé [86].

Mais les progrès des techniques d'analyses chimiques, de génie génétique et des biotechnologies en général, ont permis une nouvelle approche de ces composés organiques [83]. Ces constituants, appelés encore « biophénols », sont des substances naturelles aux propriétés antioxydantes.

Hydrocarbures

Les hydrocarbures sont constitués principalement de squalène. Nombreuses études ont montré l'action du squalène appliqué localement ou administré par voie systémique sur des cancers de la peau, du colon et du poumon, chimiquement induits chez la souris [80]. Le squalène agit aussi comme puissant piègeur de radicaux d'oxygène réactif à la surface de la peau humaine. Dans des modèles animaux, le squalène paraît également jouer un rôle important pour la santé de l'œil, et en particulier sur les bâtonnets rétinien. Par ailleurs, plusieurs équipes ont montré que la capacité d'excrétion des toxines, comme la strychnine ou l'hexachlorobenzène, s'accroît chez les animaux auxquels on apporte du squalène, mais certains de ces effets ne se manifestent qu'à très hautes doses [80]. Ces données sont en faveur de l'utilisation de l'huile d'Argane et l'huile d'Olive à des fins thérapeutiques.

Tableau 8 : Teneur des hydrocarbures de quelques HV.

	Argane	Olive	Soya	Colza	Noisette	Tournesol	Sesam
Hydrocarbure (mg/100g)	320	400-450	-	35-44	-	15-20	200

Composés phosphorés ou phospholipides.

Les phospholipides sont des composés naturellement présents dans les huiles végétales. Ils sont constitués d'une molécule de glycérol estérifiée en 1 et 2 par des acides gras et en 3 par un acide phosphorique lui-même associé à un sucre (inositol) ou une amine. On parle alors de phosphatidylcholine (lécithine), phosphatidyléthanolamine et phosphatidylsérine.

Les teneurs en phospholipides des huiles brutes dépendent du mode de trituration employée et surtout de la matière première. Ils sont pratiquement absents dans les huiles concrètes (palme, Palmiste et coprah), elles peuvent représenter 3% dans l'huile de soja et 1.5% dans celle de tournesol et de colza [72].

En raison de leur polarité (hydrophilie liée à la fonction aminée ou phosphore et hydrophobie liée aux AG), les phospholipides jouent un rôle majeur dans les constituants des interfaces membranaires, de transporteurs d'acides gras et d'émulsifiants [91]. Ces mêmes propriétés font que les phospholipides sont très employés dans de nombreuses agro-industries et qu'ils entrent dans la fabrication de produits alimentaires (chocolat, margarine, glace...), pharmaceutiques et cosmétiques. Aussi dans certains cas, les phospholipides contribuent à une amélioration de la stabilité oxydative des huiles et des graisses [92]. Ces phospholipides agissent en synergie comme antioxydants dans les huiles végétales [93].

-Cire :

Les cires sont des acides gras et alcools gras, chez les végétaux, elles contribuent à la formation de pellicules protectrices des graines et des fruits. Dans les huiles, surtout le tournesol, leur présence est responsable de l'apparition de trouble par début de cristallisation à basse température ou à température ambiante

-Pigments :

Les principaux pigments naturels appartiennent à trois grandes catégories :

--Pigments porphyriniques, parmi lesquels les chlorophylles.

--Les caroténoïdes, parmi lesquels le β -carotène.

--Les flavonoïdes et leurs dérivés.

Les caroténoïdes et les chlorophylles contribuent à la couleur des huiles.

--Caroténoïdes.

Les caroténoïdes sont des pigments naturels. Ils sont à l'origine de teintes brillantes, jaunes, oranges et rouges. Ce sont des tétra-terpènes provenant de l'évolution du lycopersène, ils comprennent les carotènes et les xanthophylles et chlorophylles.

Les caroténoïdes et plus particulièrement le trans β -carotène, sont des précurseurs de la vitamine A. Les HV non raffinées en contiennent en général de faibles quantités 10 mg/100g. Ces pigments contribuent à la coloration de l'huile. À titre indicatif, l'huile de palme est particulièrement riche en carotènes 500 à 800 mg/kg, ce qui induit une coloration foncée. L'huile de colza contient environ 95 mg/kg de caroténoïde. Une grande partie des caroténoïdes sont éliminés pendant le raffinage et se trouvent réduits à moins de 1 mg/kg [94]. L'huile d'argan doit

sa coloration rougeâtre à sa teneur élevée en pigments caroténoïdes, représentés essentiellement par les xanthophylles 500 mg/kg [87].

--Carotène.

Le carotène est un terpène, pigment de couleur orange, important pour la photosynthèse. Le carotène est le dimère de la vitamine A et se présente sous deux formes : α et β -carotène.

--Chlorophylles.

Les chlorophylles font partie d'un groupe de pigments tétra-pyrroliques avec des fonctions et des éléments structuraux communs. Elles sont caractérisées par un iso-cycle à cinq membres et par la présence d'un atome de magnésium complexé à leur centre. Les plus répandues et également les plus étudiées sont les chlorophylles "a" et "b"[81].

V. Intérêt et usage des huiles végétales selon leur composition.

Les huiles ont des compositions et des propriétés différentes. Leurs intérêts et leurs usages sont donc complémentaires [76]. Les huiles riches en acides gras mono-insaturés sont résistantes à la cuisson. Les huiles riches en acides gras poly-insaturés oméga 6, de type huile de tournesol, ont un usage mixte, cuisson et assaisonnement ; ce sont souvent de bonnes sources de vitamine E. L'huile d'argane vierge est riche en acide gras oléique, linoléique, composés mineurs ainsi son arôme de noisette. Elle a non seulement attiré les fabrications de cosmétique, car elle est réputée pour ses propriétés hydratantes, régénérantes et antirides. Les huiles riches en acide alpha linoléique, telles que colza, noix, soja et germe de blé, permettent d'accroître la consommation de cet acide gras grâce à son effet nutritionnel. L'huile de colza convient parfaitement à l'assaisonnement. Les huiles riches en acides gras saturés sont très stables au chauffage et peu ou pas oxydables, c'est le cas de l'huile de palme. Son point de fusion s'élève et sa stabilité lui permet des usages technologiques multiples.

VI. Données toxicologiques.

Les huiles sont présentées, généralement comme « sans danger ». Mais ces substances naturelles sont aussi des composés puissants. Par leur composition chimique complexe, les huiles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome. Les effets toxiques d'une huile varient considérablement selon sa nature.

Synthèse bibliographique

En règle générale, les huiles ont une toxicité aiguë, faible ou très faible par voie orale : une DL50 comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées (anis, eucalyptus, girofle, etc.) d'autres ont une DL50 inférieure à 1g/kg : l'huile de boldo 0.13 g/kg ; l'essence de moutarde 0.34 g/kg ; les essences d'origan et de la sarriette 1.37 g/kg ; les huiles du basilic, de l'estragon et de l'hysope 1.5 ml/kg. Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue [95].

PARTIE III : Capacité biochimique, propriétés et paramètres électrochimiques.

La démarche d'appréciation du pouvoir chimique, biologique et propriétés anti-corrosion

I. Propriétés biologiques

I.1. Propriétés antibactériennes

Parmi les êtres vivants du règne animal, un grand peuplement de microorganismes est quasi présent dans différents écosystèmes de notre environnement aquatique, terrestre et aussi dans notre corps. Ces microorganismes sont des bactéries, des virus, des champignons et des parasites. Les bactéries sont innombrables, elles exercent des actions bénéfiques (exemple : bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme [96]. Le traitement des infections microbiennes humaines se base principalement sur l'usage des antibiotiques ATB et les antifongiques. La prescription, à grande échelle, parfois inappropriée, a entraîné la sélection des souches résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments [97]. La dernière décennie a été connue par la recherche de molécules thérapeutiques issues de produits naturels à base des plantes [98]. En effet, les huiles extraites des plantes ont évoqué un intérêt en tant que sources de produits naturels alternatifs pour la guérison de nombreuses maladies infectieuses [99]. Ces produits synthétisés par des végétaux sont considérés comme métabolites secondaires utilisés comme substances aromatiques en parfumerie, en cosmétique ou comme agents antimicrobiens en médecine populaire, en aromathérapie et en industrie alimentaire [100]. Plus encore et face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries, le seul choix fiable à l'usage des ATB semble être celui des extraits des plantes connues de façon expérimentale depuis des siècles, leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée *in vitro* et *in vivo* [101]. En effet, l'activité antimicrobienne peut être létale (ou bactéricide) ou menant à une inhibition de la croissance (bactériostatique) car l'activité biologique d'un extrait végétal est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques [102]. Le mécanisme d'action de l'antibactérien n'est le même au niveau des sites cellulaires, car le mode d'action de l'extrait végétal dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne, cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chimiosmotique et une fuite d'ions K^+ . Ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram⁺ *S aureus* et Gram⁻ *E*

coli et levure *C albicans in vitro*. Certains composés phénoliques d'origine végétale interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Le mode d'action des extraits dépend aussi du type de microorganismes en général, les bactéries Gram⁻ sont plus résistantes que les Gram⁺ grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram⁻ est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que ceux de Gram⁺ qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries [103].

I.2. Quelques travaux antérieurs concernant l'activité biologique.

De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne des essences aromatiques, ces travaux enregistrent et renforcent des résultats relatés auparavant, pour expliquer les modes d'actions des composés chimiques comme le cas du thé désinfectant buccal, des huiles de *L multiflora* et de ses principaux composants contre un large éventail de micro-organismes de la flore buccale [104], des antioxydantes *in vitro* des extraits de plusieurs espèces de thymus récemment étaient signalés et la composition en huile de *T pectinatus* a été étudiée [105].

I.3. Principes actifs biologique [102].

Les composés phénoliques (cas du Thymol, Carvacrol et Eugénol) ont le plus grand pouvoir d'efficacité antibactérien, ils entraînent des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. En effet, le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches en détruisant les souches *E coli* et *S aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Les alcools avec 10 atomes de carbone (ou mono terpénols) viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activité bactérienne, avec le géraniol, linalool, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol. Les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides ; les plus couramment utilisés sont le néral et le géraniol (des citrals), le citronnellal et le cuminal. D'autres

études fondamentales ont aussi montré que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique.

I.4. Type de microorganismes.

En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis des huiles. Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries. Les bactéries Gram⁻ apparaissent plus résistantes que les Gram⁺ vis-à-vis des huiles [106].

I.5. Méthodes d'évaluation de l'activité biologique.

Un aperçu bibliographique montre la quasi-utilisation des méthodes d'analyse utilisées est la diffusion sur disque, dilution d'agar et dilution de bouillon.

Techniques d'évaluation de l'activité antibactériennes.

Méthode de l'aromatogramme [107].

Elle est appelée la méthode de Vincent [108] ou encore méthode de diffusion dans la gélose [109]. Elle permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis-à-vis des extraits à bases d'une plante donnée [110]. Elle consiste à placer dans une étuve à 37.5°C, dans des conditions optimales de culture, les germes pathogènes se développant rapidement sur le milieu nutritif. Des petits disques de papier buvard imprégné de différents extraits à tester sont ensuite disposés dans la boîte envahie par le germe à tester. Après un temps d'incubation dans l'étuve à 37.5°C, le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré donne une indication précise de l'activité antibactérienne des huiles utilisées [102].

Méthode de puits.

C'est une technique de diffusion sans disque, qui permet la réalisation des puits dans la gélose. Cette cavité est ensuite remplie d'un volume donné de l'extrait à tester qui va diffuser dans la gélose et on procède, après incubation, la mesure du diamètre de la zone d'inhibition comme dans la technique précédente [110].

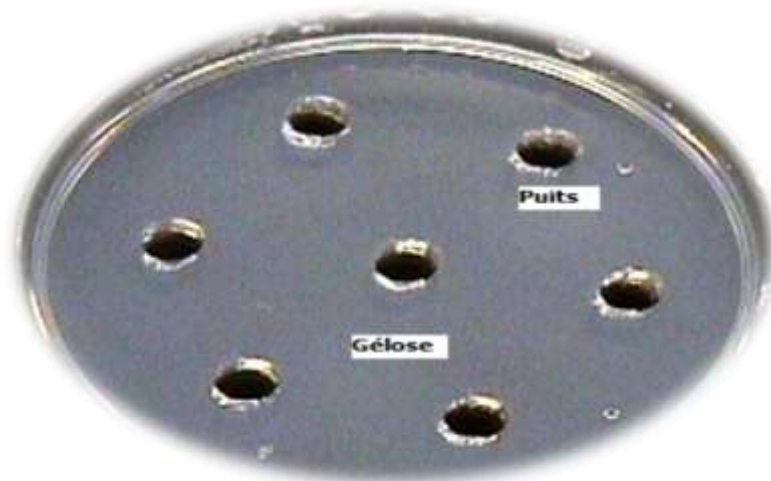


Figure 11 : Boite gélosé avec des puits pour être inoculés avec des inhibiteurs.

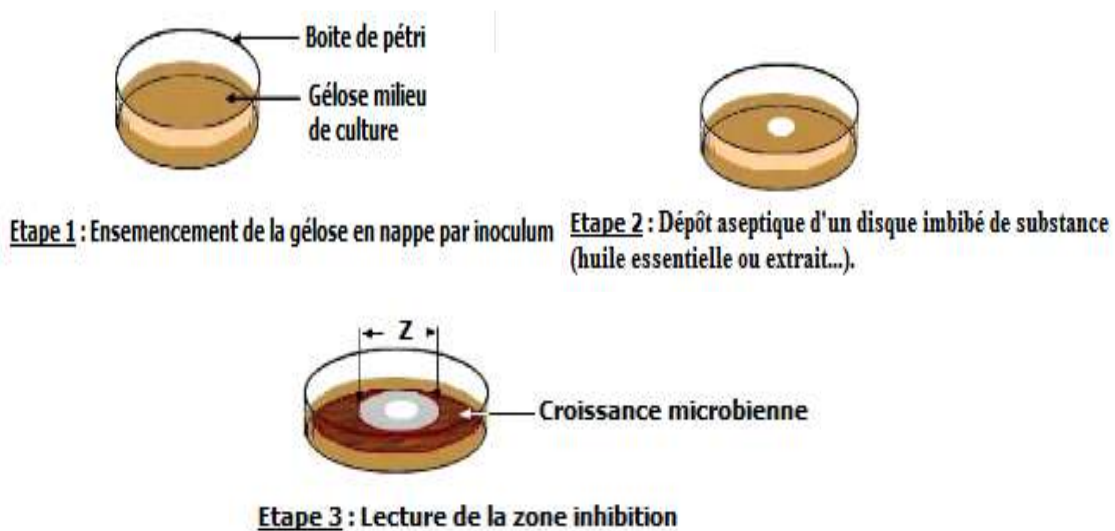


Figure 12 : Illustration des étapes de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri.

Méthode de dilution, détermination des CMI et CMB (méthode standardisée de micro-dilution).

La méthode par dilution a pour but d'évaluer des concentrations minimales inhibitrices CMI. Elle détermine la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme et CMB qui détermine la concentration minimale d'un agent antimicrobien bactéricide.

En effet, la CMI correspond à la première dilution où la croissance est négative (pas de culture visible), la suspension de la cupule correspondante est inoculée sur la gélose pour déterminer l'activité exercée par l'extrait sur les souches testées, où leurs croissances correspondantes à l'activité bactériostatique, tandis que l'effet bactéricide est révélé par une gélose claire après incubation [111].

Les CMI sont déterminées par la méthode standardisée de micro-dilution en milieu liquide. L'étude est réalisée en microplaques en matière plastique comportant 96 puits à fond « U » (8 rangées de 12 puits numérotés de 1 à 12) en bouillon Mueller- Hinton, avec un inoculum bactérien final de 5.10^6 cfu/ml, selon les recommandations de la CA-SFM. Les microplaques sont incubées 18 h à 37°C en aérobiose.

Les dilutions d'échantillons ont été distribuées dans les cupules en partant de la concentration la plus forte 250 µg/ml à la plus faible 1.95 µg/ml. Les dilutions de l'huile essentielle ont été réalisées dans le DMSO à 10%.

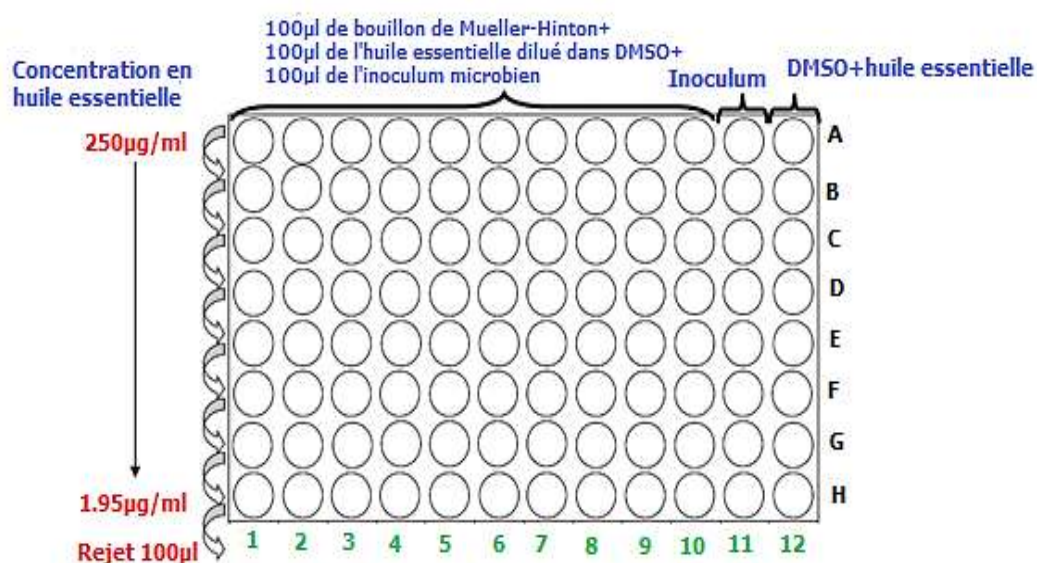


Figure 13 : Schéma d'utilisation d'une microplaque.

Méthode de dilution de bouillon.

Elle est utilisée aussi pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices. Une gamme de dilution de l'huile est additionnée à une série de tubes contenant un milieu de culture liquide, de composition convenable. Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions, la concentration minimale inhibitrice est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire qu'aucune turbidité ou trouble n'est observé dans le milieu [112,113].

Evaluation de l'huile et de l'extrait par l'activité antifongique.

En général, les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique sont rapides, moins coûteuses et faciles à réaliser. L'activité contre les mycètes filamenteux peut être évaluée par la méthode de diffusion et de la dilution [114,115].

Activité antimicrobienne des polyphénols.

Les polyphénols, des flavonoïdes, des acides phénoliques et des tannins ont reçu plus d'attention en raison de leurs activités antimicrobiennes (voir tableau 9). Il est rapporté que l'activité antimicrobienne des composants phyto-chimiques des extraits, peut être exercée par différents modes d'action au niveau cellulaire en raison de leur nature chimique et de leur quantité, [116]. Des propriétés ont été utilisées pour développer de nouveaux agents de conservation des aliments naturels, ou de développer des thérapies innovantes pour le traitement des maladies infectieuses [117].

L'activité antimicrobienne des tanins hydrolysables bien connue, car ils sont capables de précipiter des protéines et/ou supprimer des cofacteurs métalliques à travers leur forte affinité pour les ions métalliques, agissant comme une barrière microbienne.

L'activité antimicrobienne des tannins condensés, expliqué par plusieurs mécanismes, telle que la déstabilisation de la membrane cytoplasmique, la perméabilisation de la membrane cellulaire, l'inhibition des enzymes microbiennes extracellulaires, des actions directes sur le métabolisme microbien, la privation des substrats nécessaires à la croissance microbienne, en particulier les micronutriments minéraux essentiels tels que le fer et le zinc (par la chélation des métaux) [118].

Tableau 9 : Activités antimicrobiennes des principaux polyphénols sur les germes sensibles [119]

Polyphénols	Activités	Germes sensibles
Flavonoïdes : -Flavan-3-ol -Flavonol	-Antibactérienne.	- <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Clostridium perfringes</i> , <i>Ecoli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Saureus</i> , <i>L acidophilus</i> , <i>A naeslundii</i> , <i>P oralis</i> , <i>P gingivalis</i> , <i>Pmelaninogenica</i> , <i>F nucleatum</i> , <i>Kpneumonia</i> .
	-Antivirale.	- <i>Adenovirus</i> , <i>Enterovirus</i> , <i>Flu virus</i>
	-Antifongique.	- <i>Calbicans</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i>
Acides phénoliques.	-Antibactérienne.	- <i>S aureus</i> , <i>L monocytogenes</i> , <i>E coli</i> , <i>P aeruginosa</i> .
Tannins Condensés.	-Antibactérienne.	- <i>S mutans</i> , <i>E coli</i> , <i>S aureus</i>
	-Antivirale.	- <i>Virus Influenza A</i> , <i>virus herpès simplex type -1 (HSV)</i> .
Tannins Hydrolysables	-Antibactérienne.	- <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>E coli</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Lysteria</i> .
	-Antivirale.	- <i>Epstein-Barr virus</i> , <i>Herpes virus HSV -1 et HSV -2</i> .
	-Antifongique.	- <i>C parapsilosis</i> .

II. Capacité antioxydante

Le monde d'aujourd'hui a connu des situations pathologiques telles que le vieillissement et le cancer par oxydation directe et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires par l'accumulation des molécules radicalaires dans l'organisme, qui détériore les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides. Les chercheurs, les industriels de l'agroalimentaire, du cosmétique et pharmaceutique, s'intéressent énormément aux substances naturelles pour l'application en produit de consommation toute en évitant l'utilisation des produits synthétiques, pour remédier à ce problème et mettre en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable, induit par les espèces réactives oxygénées ERO [120]. La pathologie est définie donc par un déséquilibre de la balance pro oxydant antioxydant aboutissant à un stress oxydatif néfaste aux cellules de l'organisme dû à une production excessive de radicaux libres. Généralement des métabolites secondaires comme les polyphénols jouent un rôle important dans la santé humaine vis-à-vis des maladies pernicieuses (cancer), ces composés qui sont représentés particulièrement par la famille des flavonoïdes sont largement recherchés pour leurs propriétés biologiques comme antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticarcinogènes. Afin de stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres (structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles), par une activité des antioxydants en utilisant l'exploitation des plantes comme source de principes actifs inexhaustible et renouvelable. Ces métabolites forment donc un absolu réservoir de composés de grande diversité chimiques, possédant un immense potentiel d'activités biologiques, dont l'évaluation de ses activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études [121].

D'où, une importance convenue aux composés naturels issus de plantes possédants des propriétés antioxydantes et qui sont activement testées, et définir l'antioxydant, comme toute substance, avec une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat [122]. Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, en gardant la vie cellulaire active et saine. Les antioxydants sont fabriqués par le corps humain, d'autres telles les vitamines et polyphénols, sont apportés par notre alimentation [123].

II.1. Détermination du pouvoir antioxydant.

L'oxydation, est une réaction d'oxydoréduction qui déplace des électrons d'une substance vers un agent oxydant pour la production des radicaux libres. Un antioxydant, est une molécule qui retarde ou inhibe l'oxydation d'autres substances chimiques à leur contact. Leur propriété se trouve beaucoup dans les familles des thiols et des phénols [124]. Les plantes et les animaux utilisent et produisent de nombreux antioxydants pour se protéger, tels le glutathion, la vitamine C et la vitamine E, ou des enzymes telles la catalase, le superoxyde dismutase et certaines peroxydases, une déficience ou une absence de production d'enzymes antioxydantes entraîne un stress oxydatif [125].

Parmi les méthodes d'évaluation, d'après les recherches bibliographiques, il apparaît nettement la nécessité de plusieurs méthodes pour déterminer les propensions antioxydants *in vitro* et *in vivo*, afin de donner une prévision complète de l'efficacité antioxydante. L'utilisation de plus d'une méthode est donc essentielle et nous avons choisi le test du 2,2-diphényl picrylhydrazyl DPPH, en évaluant l'activité antioxydante de manière dynamique avec des radicaux actifs sur le plan pathologique, le test de l'acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique ABTS et le test de la réduction du pouvoir antioxydant FRAP.

Tableau 10 : Différentes méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante utilisées [126]

Méthode de l'évolution de l'activité antioxydante « <i>in vitro</i> »			
Tests	DPPH [127]	ABTS [128]	FRAP [129]
Mécanisme réactionnel.	•Transfère d'électron majoritaire.	•Transfère d'électron ou de proton.	•Transfère d'électron.
Nature des molécules testées.	•Hydrophiles et lipophiles.	•Hydrophiles et lipophiles.	•Hydrophiles.
Expression des résultats.	•IC50 et/ou en mg ou μmol équivalent Trolox.	•IC 50 et/ou en mg ou μmol équivalent Trolox.	•En mg ou μmol équivalent Fe^{2+} .
Avantages.	•Très facile à mettre en œuvre.	•Peu coûteux.	•Très facile à mettre en œuvre.
Inconvénients	•Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires. •Interférences possibles à 515 nm.	•Forte dépendance au pH et au solvant.	•Radical inexistant <i>in vivo</i> .

II.2. Généralité sur les métabolites secondaires.

Le processus métabolique est lié aux conditions vitales de la plante, car elle doit faire face à de multiples agressions de l'environnement à savoir les prédateurs, les microorganismes pathogènes, etc. Donc la plante développe un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser des substances pour se défendre, appelées les métabolites secondaires [130].

II.2.1. Définition du stress Oxydant.

Parmi les radicaux libres, ERO, sont produites en permanence par notre organisme (rôle physiologique) mais un système efficace de défenses antioxydantes (vitamines, enzymes, oligoéléments) ce qui permet de réguler cette production, afin de prévenir tout dégât cellulaire excessif [131]. Le stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pros oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles [132].

Tableau 11 : Principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques [133].

Nom	Symbole
Espèces radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	$HOCl$
Oxygène singulier	1O_2
Peroxynitrite	$ONOO^-$

II.2.2. Classification des antioxydants.

Les antioxydants sont classés généralement par leur mécanisme d'action ou par leur nature chimique.

Antioxydants primaires.

Ce sont des piègeurs des radicaux libres qui peuvent inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Ils sont généralement des composés phénoliques AH capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le transformer en un composé stable non radicalaire. Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation [134].

Antioxydants secondaires.

Les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Ces antioxydants incluent des chélateurs de métaux pro oxydatif, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro oxydative, enzymes antioxydantes et destructrices des hydroperoxides. Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions antioxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse et effectivement régénéré du tocophérol. De même, plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux [135].

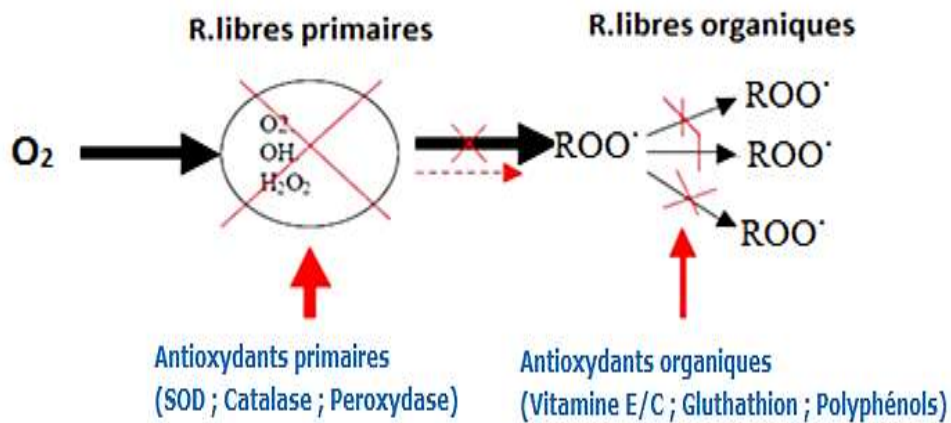


Figure 14 : Systèmes de défense contre les radicaux libres [136].

Antioxydants naturels.

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, sont les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques [136].

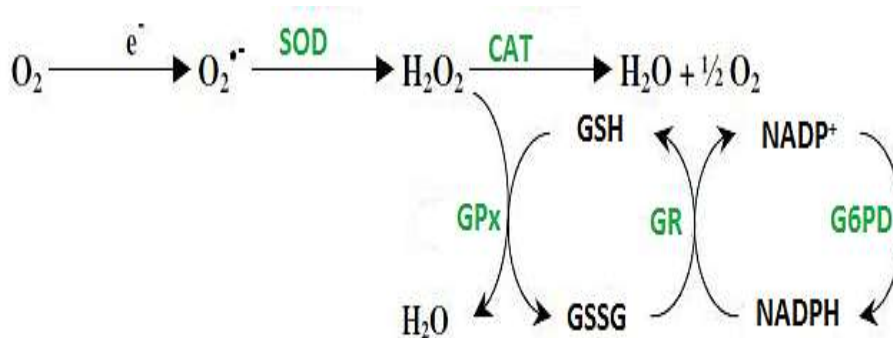


Figure 15 : Etapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.

-Superoxydes dismutases SOD.

La famille des superoxydes dismutases comporte trois isoformes (SOD1, SOD2, SOD3) dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxydes en espèces oxygénées moins réactives que sont H_2O_2 et O_2 [137]. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc [138].

-Catalases.

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux [139].

-Glutathions peroxydases et réductases GSHP.

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries de la cellule. Le rôle du glutathion peroxydase GPx est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques ROOH en alcools. Cette réaction, demande l'intervention de deux molécules de glutathion GSH, celles-ci se transforment en glutathion-disulfure GSSG [140]:

Le glutathion réductase GR, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG. Au cours de cette réaction, le glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH

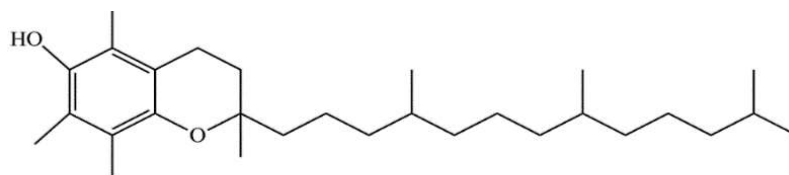
Cette réaction produit du $NADP^+$ qui sera régénéré en NADPH pour une utilisation ultérieure, par une autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase)

Antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (les oligoéléments, le glutathion réduit GSH, les vitamines E et C et les polyphénols) H_2O_2 .

-Vitamine E

La vitamine E, désigne un groupe de nombreux composants présents dans la nature : les α -, β -, γ - et δ -tocophérols et tocotriénols [141]. Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles [142]. La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique [143].



α -Tocophérol (vitamine E)

-*Vitamine C (acide ascorbique).*

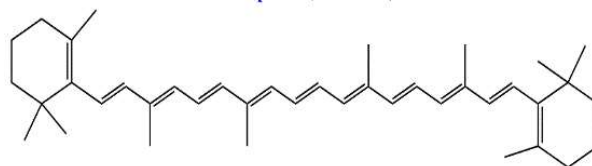
La vitamine C, ou acide ascorbique, est l'antioxydant hydrosoluble majeur [144]. Elle se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire, elle peut capter directement l' $O_2^{\cdot-}$ et l' OH^{\cdot} . Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E [143].



**Acide L ascorbique
(vitamine C)**

- *β -carotène.*

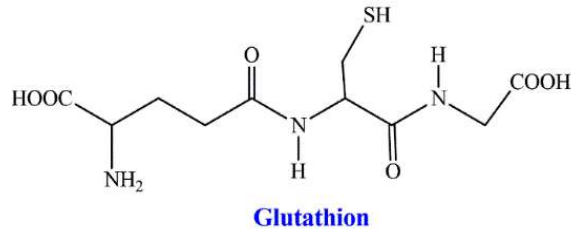
La β -carotène est apportée par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités, elle est le précurseur de la vitamine A, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante et s'oppose à la génotoxicité de nombreux agents [145]. La présence de nombreux doubles liaisons au sein de leurs structures en fait des antioxydants reconnus, notamment par leur effet protecteur vis-à-vis des radiations solaires (UVA) [146].



β -Carotène

-*Glutathion.*

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation [147]. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante telle que la vitamine C ou la vitamine E [148].



-Oligoéléments.

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium [149].

-Composés phénoliques issus des végétaux.

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'années un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agroalimentaire et des consommateurs pour une des raisons principales qui sont la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins [150].

Antioxydants synthétiques.

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole BHA, butylhydroxytoluène BHT, gallate propylée PG et le tétrabutylhydroquinone TBHQ, sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydantes de la nourriture [151]. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques [152]. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques [153]. Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat [154]



Plusieurs antioxydants synthétiques et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta-carotène) sont officiellement autorisés pour l'utilisation alimentaire. Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits pharmaceutiques et de cosmétiques afin d'éviter leur dégradation. Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydants synthétiques comme sources de danger [155].

Composés phénoliques.

Les composés phénoliques, sont divers effets sur la physiologie végétale par leurs actions antibactériennes et antifongiques. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits, certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence [156].

-Acides phénoliques.

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils sont solubles dans l'éther. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool. On distingue : les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones). Les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure du type C6-C3) [157].

-Acides benzoïques.

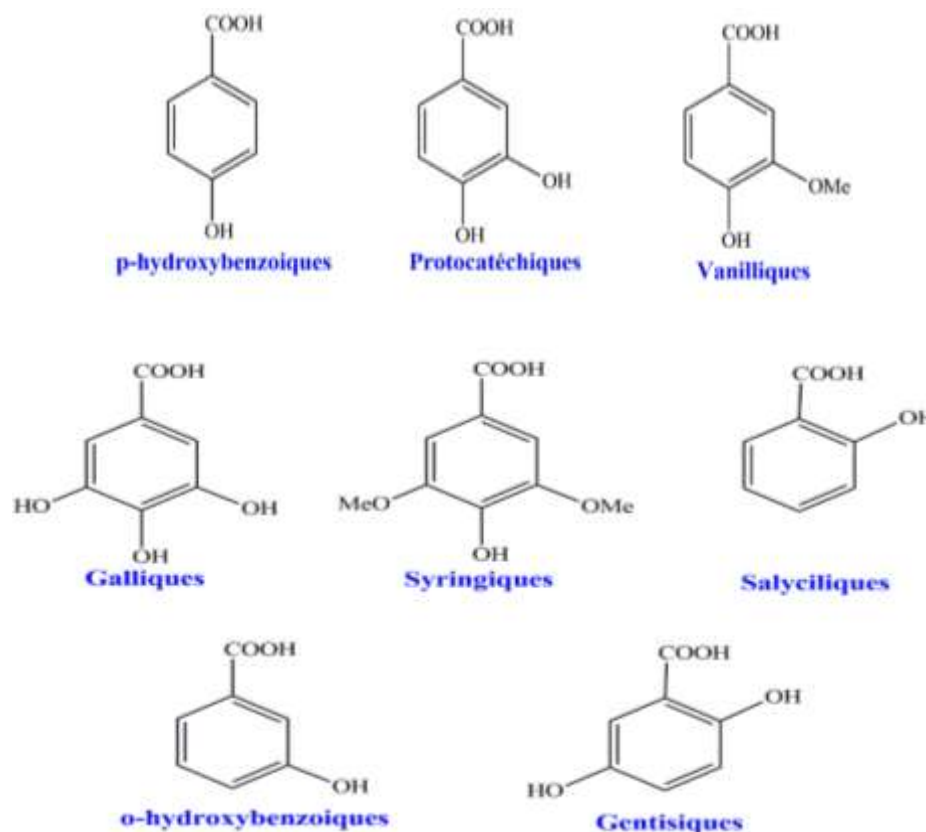
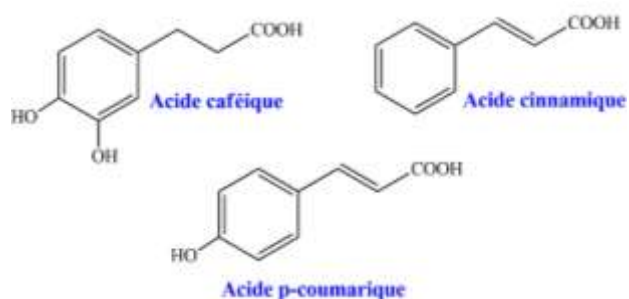


Figure 16 : Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque [158]

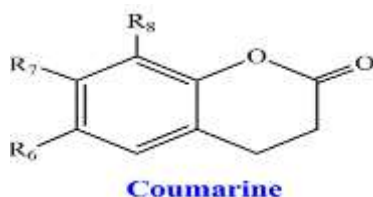
-Acides cinnamiques.

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique [158].



-Coumarines.

Les coumarines ont différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes [159].



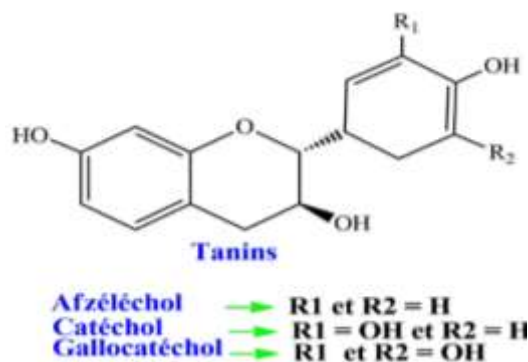
-Quinones.

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouge, jaune ou orange et possèdent deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries [130].

-Tanins.

Les tanins, sont divisés en deux groupes : les tanins condensés, formés de pro anthocyanidines (sous forme d'oligomères) et les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

Les tanins condensés (flavan-3-ols) : appelés aussi polyphénols ou pro anthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique [160]. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétrique C2 et C3 et par le niveau d'hydroxylation du noyau B. On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées) [161].



Les tanins hydrolysables : sont des esters de glucides ou d'acide phénol, ou de dérivés d'acide phénol ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. Ce groupe de tanins est caractéristique des dicotylédones. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales [160], sont constitués d'un noyau central le glucose et des chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol, des liaisons carbone à carbone entre noyaux (liaisons biphenyle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins ellagiques [161].

-Flavonoïdes.

Les flavonoïdes, sont les principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes, ont une origine biosynthétique commune et de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane).

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune dérivant de la voie de l'acide shikimique [162].

Ce sont des pigments, responsables de la couleur rouge de différents organes végétaux flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets. On distingue 5 groupes majeurs de flavono : les flavones ; les flavonols (réputés les plus antioxydants) et les procyanidines ; les anthocyanines ; les hydroxycinnamates (abondants dans les fruits) ; les flavanones. Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbone qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 [163].

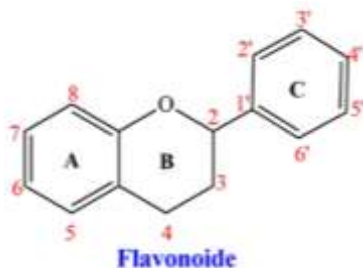


Tableau 12 : Quelques classes des flavonoïdes [164]

Groupe de flavonoïde	Structure	Caractéristique
Flavones		Le groupe le plus abondant des composés phénoliques. Ils se différencient des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3. Ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration.
Flavonols		Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
Anthocyanines		Représente le groupe le plus important des substances colorées. Ces pigments hydrolysables contribuent à la coloration des angiospermes.
Hydroxycinnamates		Sont de puissants antioxydants, mais n'ont pas d'impact sensoriel sauf lorsque oxydés, ils peuvent former des pigments bruns qui ont finalement précipité.
Flavanones.		Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3. Le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.

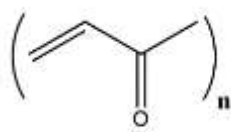
-Alcaloïdes.

Les alcaloïdes ont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïdes peut se faire par précipitation à l'aide de plusieurs réactifs [130].

-Terpénoïdes (isoprénoïdes).

Les isoprénoïdes, sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la

synthèse de composés comme le β -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire [165].



Isoprène

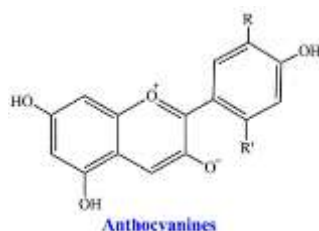
Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène ($C_5 H_8$). Ils sont classés en fonction de leurs unités isoprène.

Tableau 13 : Quelques exemples de différents types de terpénoïdes.

N°	Différents de terpénoïdes		
1	C5	Hemiterpène	Isoprène
2	C10	Monoterpènes	Nero myrcene
3	C15	Sesquiterpènes	La chaîne de la chlorophylle, vitamine E
4	C20	Diterpènes	Huile essentielles
6	C30	Triterpènes	Phytostérole
8	C40	Tétraterpènes	Caroténoïdes
>8	>40	Polyterpene	Proteine, cytoquinine

-Anthocyanes.

Les anthocyanes terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'oeil nu [166]. Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosyl en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment [161].



II.3. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires.

Tableau 14 : Montrant les effets thérapeutiques des métabolites secondaires.

Métabolites secondaires	Effet thérapeutiques
Composés phénoliques	<p>-Activités antiallergiques, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, antithrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire [167].</p> <p>-Effet antioxydant par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes [168].</p> <p>-Conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, ils luttent contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau [169].</p> <p>-Effet capables d'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des LDL (lipoprotéines de faible densité), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, d'empêcher l'agrégat [170].</p> <p>-Implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, ostéoporose [171].</p>
Acides Phénoliques ses dérivés	<p>-Anti-inflammatoires, antiseptiques urinaires, anti-radicalaires, cholagogues, hépato-protecteurs, cholérétiques, immunostimulants [162]. Antipyrétiques [169].</p> <p>-L'acide caféique, très efficace contre les virus, bactéries et champignons [172].</p> <p>-L'acide gallique a le pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuses du poumon chez les souris <i>in vitro</i>. Anticancéreux telle la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer [173].</p> <p>-Prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative telle que la quercétine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux [174].</p>
Quinones	<p>-Utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides [130]</p> <p>-laxatifs stimulants antidépresseurs (hypericin), anti-protazoaires, antivirales, antibactériennes, et antiallergiques [169].</p>
Alcaloïdes	<p>-Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine, ...). Au niveau du système nerveux autonome comme sympathomimétiques (éphédrine), anticholinergiques (atropine). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antipaludiques (quinine) [130].</p>
Tanins	<p>-Précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides [130].</p> <p>-Anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie [175].</p> <p>-Astringent, vasculo-protectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques. Les proanthocyanidines dimères de l'aubépine seraient de bons sédatifs cardiaques [169].</p> <p>-Ils inhibent les ions Cu^{2+} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages <i>in vitro</i> [176].</p>
Coumarines	<p>-Chez les patients atteints de cancers avancés car elle est rapidement métabolisée au niveau du foie en 7-hydroxycoumarine [177].</p> <p>-Anti-inflammatoires et analgésiques [178].</p> <p>-Vasculo-protectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives [169].</p> <p>-Capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes [179].</p> <p>-Troubles gastriques [180] antivirale [181] antimicrobienne [182].</p>

	-Effets cytotoxiques, Immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives [183]. -Activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives, d'affections cutanées [184]
Anthocyanes	-Dans les troubles de la fragilité capillaire, diurétiques, antiseptiques urinaires. Améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien [169]. -Inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation du collagène (élastase, collagénase), vaso-protectrices et antioedémateuse[162].
Terpène	-Activités cytostatiques, insecticides, anti-inflammatoires, molluscicides et analgésiques [162].

Le tableau 14 ci-dessus montre des actions thérapeutiques des métabolites II^{aires} sur la santé humaine. On remarque que l'utilisation de ces composés chimiques dans le processus métabolique pour des différentes pathologies.

II.4. Méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydation.

Il existe de nombreuses méthodes de mesure de l'activité antioxydante telle que : méthode piégeage du radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$, méthode piégeage du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 scavenging activity, méthode piégeage du radical hydroxyle HO^{\bullet} et méthode piégeage du radical peroxy ROO^{\bullet} . Dans notre étude, l'activité anti-oxydation est utilisée par trois méthodes suivantes :

Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl DPPH[•].

Le composé chimique $DPPH^{\bullet}$ (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques [185], la réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir anti-radicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits [186].

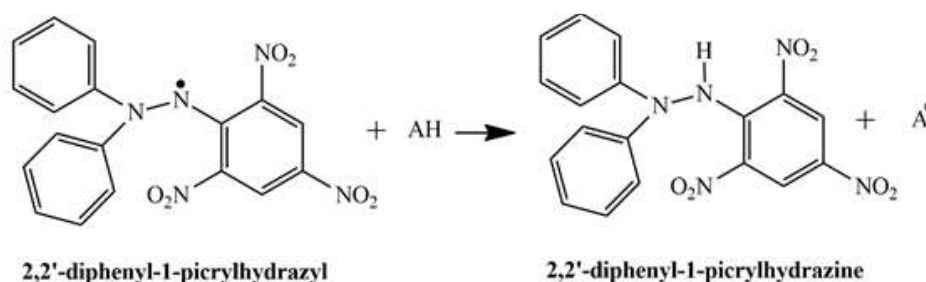


Figure 17 : Réduction du radical DPPH.

Piégeage de l'ABTS (2,2-azynobis- [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]).

Dans la méthode TEAC (Trolox équivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}, obtenu à partir de l'ABTS comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox[®] (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman -2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine [187] ou horseradishperoxidase) [188] en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse [135] ou persulfate de potassium) [189]. Le radical ABTS^{•+}, en contact avec un donneur de H[•] conduit à l'ABTS^{•+} et à la décoloration à 734 nm de la solution [190]. La capacité antioxydante en équivalent Trolox[®] correspond à la concentration mmole/l ou mg/l de Trolox[®] ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester, jus de fruit par exemple [187].

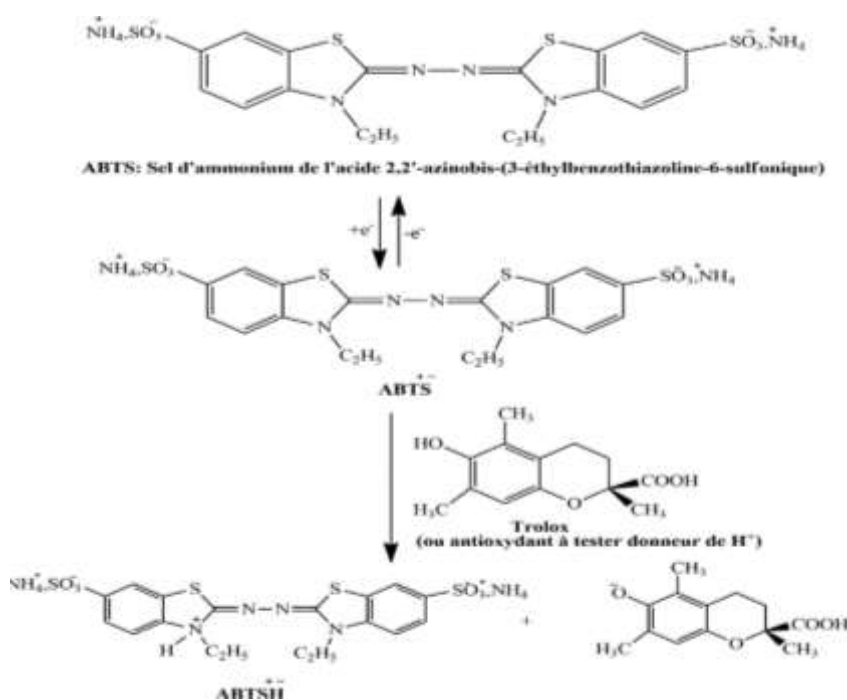


Figure 18 : Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•].

Reduction de fer: FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma).

Cette technique a été développée pour mesurer la capacité du plasma à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet, la Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. La Fe^{2+} à un pH faible forme un complexe avec la 2, 4,6-tris (2-pyridyl) -1, 3,5-s-triazine (TPTZ) de couleur bleue qui a une absorption maximale à 594 nm. Les valeurs sont obtenues par comparaison de l'absorbance à 594 nm du mélange réactionnel contenant l'échantillon à tester avec celle d'un mélange réactionnel contenant une concentration connue en Fe^{2+} [129].

La présence des reductants dans les extraits provoque la réduction de fer Fe^{3+} complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évaluée en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue vert dans le milieu réactionnel à 700 nm. Le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi-quantitative» des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction redox [191].

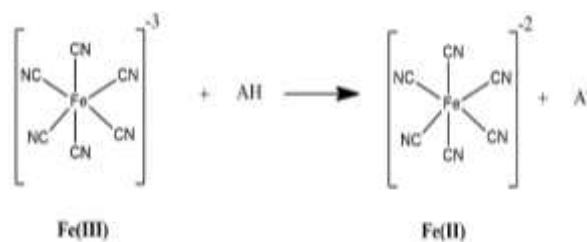


Figure 19 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique $\text{Fe}(\text{III})$ et un antioxydant AH.

III. Inhibiteur de la corrosion

III.1. Généralités.

La corrosion est la destruction des métaux sous l'action des milieux corrosifs, c'est un phénomène suivant lequel les métaux et alliages ont l'aptitude à retourner vers leur état originel d'oxyde, de sulfure, de carbonate ou de tout autre sel plus stable dans le milieu ambiant, sous l'action des réactifs chimiques ou des agents atmosphériques [192]. La plupart des industries utilisent massivement les acides dans ses processus de nettoyage ou décapage, comme le cas des canalisations des puits de pétrole pour l'élimination de dépôts localisés (la rouille ou dépôts biologiques, etc) suite de la dégradation corrosive. D'où de nombreux procédés sont utilisés pour arrêter cette corrosion, tels que, l'électrodéposition, la phosphatation, le laminage à froid, la

galvanisation, l'émaillage ou simplement la peinture sur une surface propre, lisse et exempte de trace de sels ou d'oxydes. Autre processus d'enlèvement des dépôts gênants par l'émergence des corps métalliques dans des bains acides dans lesquels l'attaque acide entraîne la dissolution des dépôts mais aussi partiellement celle de la surface métallique. Et pour minimiser la dissolution du métal et la consommation excessive de l'acide, des inhibiteurs de corrosion sont ajoutés au bain de traitement. Parmi les acides disponibles commercialement, l'acide chlorhydrique est le plus fréquemment utilisé qui remplace de plus en plus l'acide sulfurique.

Ce chapitre envisage d'étudier l'action de l'acide chlorhydrique sur l'acier C35 sans et avec addition d'un composé anticorrosif naturel et la mise en valeur les différentes propriétés multifonctionnelles de notre composé (huileux ou extrait) d'une manière électrochimique et thermodynamique, ainsi il est possible de déterminer l'évaluation des efficacités inhibitrices dans le processus d'inhibition de la corrosion résultant l'adsorption à la surface du métal. En effet, les phénomènes d'adsorption peuvent être décrits par deux principaux types d'interaction, à savoir l'adsorption physique et la chimisorption, qui sont influencées par la nature, la charge du métal, la structure chimique du produit organique et le type d'électrolyte utilisé.

III.2. Introduction à l'étude de la corrosion.

La corrosion, est une dégradation du matériau ou de ses propriétés par réaction chimique sous l'action de l'environnement [193].

L'inhibiteur de corrosion est une substance chimique qui, ajoutée à faible concentration au milieu corrosif, ralentit ou stoppe le processus de corrosion d'un métal placé au contact de ce milieu [111]. Plusieurs processus d'inhibition traduisent le terme inhibiteur comme protecteur contre la corrosion et peut-être même interprété ralentisseur du phénomène de la dégradation du matériel.

III.2.1. Conditions d'utilisation.

La corrosion doit répondre par conséquent à un certain nombre de propriétés fondamentales :

- Réduire la vitesse de corrosion d'un métal, sans affecter les particularités physico-chimiques, surtout la résistance mécanique (par exemple, risque de fragilisation par l'hydrogène en milieu acide) ;
- La stabilité en présence des autres constituants du milieu, en particulier vis-à-vis des oxydants ;
- Être invariable aux températures d'utilisation ;

- Être efficace à faible concentration ;
- Être acceptable avec les normes de non-toxicité ;
- Être peu onéreux pour espérer déboucher sur des valorisations industrielles.

III.2.2. Catégories des inhibiteurs.

La répartition des inhibiteurs se fait de diverses manières (voir figure 23) selon la nature des produits (inhibiteurs organiques ou minéraux), le mécanisme d'action électrochimique (inhibiteurs cathodiques, anodiques ou mixtes) leurs mécanismes d'interface et principes d'action (adsorption à la surface du métal et/ou formation d'un film protecteur) ou le domaine d'application [194].

Inhibiteurs organiques.

Actuellement les molécules organiques sont meilleures choisies comme inhibitrices de corrosion à raison d'écotoxicité essentiellement par rapport aux inhibiteurs inorganiques ; leur l'action protectrice se traduit par l'adsorption d'une barrière plus ou moins permanente, d'épaisseur finie. [195].

Inhibiteurs minéraux.

Les utilisations de ces molécules sont souvent en milieu proche de la neutralité voire en milieu alcalin rarement en milieu acide [196].

Inhibiteurs écologiques.

Les inhibiteurs écologiques ou verts sont subdivisés en deux groupes (écologique organique et écologique minérale). Ils sont biodégradables, acceptables pour l'environnement, facilement disponibles et provenant de sources renouvelables.

III.2.3. Mécanisme d'action.

Le mécanisme d'action de l'anticorrosion métal/solution est un processus essentiellement électrochimique, suite à des étapes de la réaction élémentaire (transport d'espèces en solution, formation d'intermédiaires superficiels, adsorption des espèces à la surface des phases solides, transfert de charge électronique) traduit par l'action de l'inhibiteur (données dans la figure 24). En effet, le processus de transport des espèces électroactives (dioxygène, proton, produits de

réaction) est plus observé fréquemment au voisinage immédiat de la surface métallique. Les agents chélatants (formation de pseudo-complexes avec les ions ferreux de la couche d'oxyde) formant une couche épaisse à la surface du matériau, capable de bloquer le processus de réduction de l'oxygène dissous, surtout en circuit fermé par élimination d'oxygène, la corrosion, dans ce cas est contrôlée par un simple ajustement du pH à une valeur suffisamment élevée.

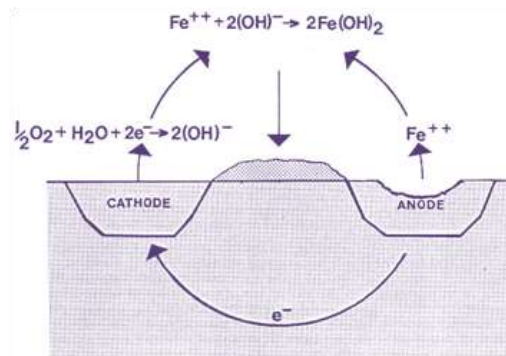


Figure 20 : Différents processus se déroulant à l'interface lors de la corrosion d'un métal en milieu liquide.

Le rôle de l'inhibiteur sera nécessairement de diminuer la vitesse de l'une des deux réactions et dans certains cas les deux à la fois. Si l'inhibiteur ralentit la réaction d'oxydation en bloquant les sites anodiques (siège de l'oxydation du métal), il est appelé inhibiteur anodique. Ou encore par le blocage des sites cathodiques (siège de la réduction de l'oxygène dissous en milieu aéré ou siège de la réduction du proton H^+ en milieu acide), il est appelé inhibiteur cathodique. Quel que soit le pH du milieu aéré la réduction du dioxygène est faisable, par contre en milieu acide, la réduction du proton est prépondérante et on néglige souvent la réaction du dioxygène dissous. Quand, la réaction anodique et celle de la réaction cathodique diminue en même temps la vitesse de corrosion, l'inhibition est appelée mixte.

L'action des inhibiteurs cathodiques se manifeste par une diminution de la vitesse de la réaction cathodique et par suite une formation du film associé et serré par la précipitation de sels basiques ou d'hydroxydes s'installe, c'est généralement le résultat de l'immigration des cations vers la surface cathodique, interprété par un déplacement du potentiel de corrosion vers des valeurs moins nobles [197].

En conclusion, le mécanisme d'action d'un inhibiteur a deux aspects mécanique et morphologique.

Mécanismes d'action inter faciale.

Deux types d'interaction sont principalement responsables de la liaison inhibiteur/surface métallique, il s'agit de la physisorption (formation de liaisons faibles) et la chimisorption [198].

III.3. Détermination des paramètres électrochimiques.

Le phénomène de corrosion peut être divisé en deux phases : phase stationnaire et phase transitoire.

III.3.1. Courbes de polarisation.

Les courbes de polarisation de l'interface métal/solution sont fondamentales pour la cinétique électrochimique. Le dispositif utilisé pour le traçage des courbes de polarisation (figure 24). L'application des différents potentiels à l'électrode de travail se fait grâce à la contre-électrode. On mesure au début d'essai le courant stationnaire qui s'établit après un certain temps dans le circuit électrique entre l'électrode de travail et la contre-électrode. La vitesse globale est déterminée par celle de l'étape la plus lente, le tracé des courbes de polarisation peut donc être exploité pour mesurer la vitesse de corrosion. Elle permet de déterminer d'une façon précise d'autres paramètres électrochimiques d'un métal au contact d'un électrolyte à savoir : le courant de corrosion I_{corr} , les pentes de Tafel, la résistance de polarisation R_p . Trois types de courbes de polarisation sont observés en fonction de la cinétique de la réaction : la cinétique d'activation pure ou de transfert de charge, la cinétique de diffusion pure ou transport de matière, la cinétique mixte (activation+diffusion). L'électrolyte utilisé, est une solution d'acide chlorhydrique 1.0 M à 303 K.

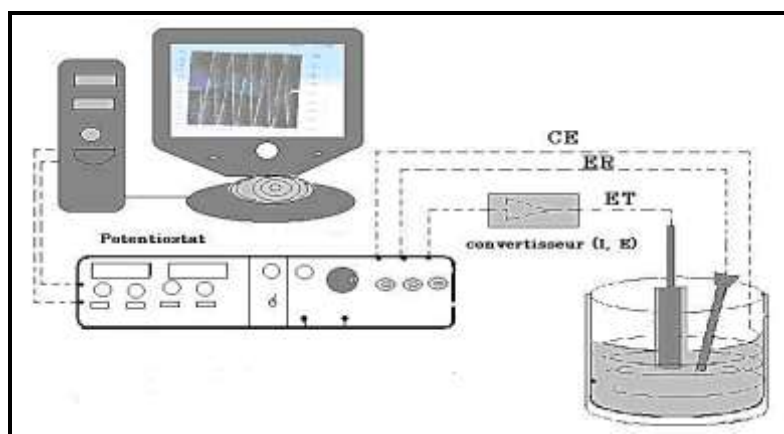


Figure 21 : Dispositif de mesure d'une courbe de polarisation potentiostatique ET : électrode de travail, ER : électrode de référence, CE : contre électrode.

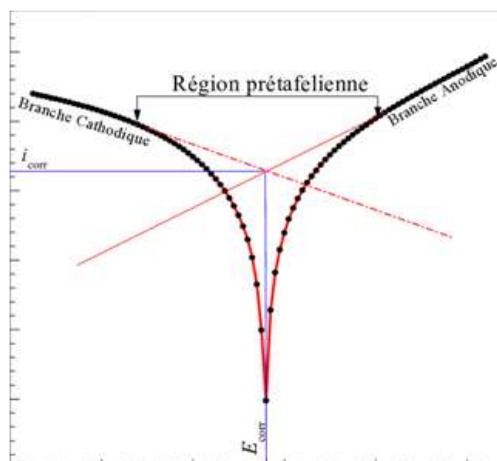


Figure 22 : Détermination des paramètres électrochimiques à partir des droites de Tafel

III.3.2. Méthode transitoire : la spectroscopie d'impédance électrochimique

La spectroscopie d'impédance électrochimique S.I.E. est capable d'identifier les intervalles élémentaires communiquant dans le processus global en se déployant l'interface métal/solution sous forme de diverses constantes de temps [199].

Au voisinage immédiat de l'interface, le champ électrique très important fait apparaître une charge d'espace (la double couche) et conduit à la mise en parallèle d'une capacité C , avec l'impédance faradique. Par conséquent, on peut représenter l'interface électrochimique sous forme d'un circuit électrique équivalent dans lequel il convient d'introduire en série la résistance finie de l'électrolyte R_t .

Relation entre mécanisme électrochimique et modèle électrique (Réaction faradique (transfert de charge pur)).

Les valeurs numériques de C_{dl} et R_t dépendent du potentiel appliqué à l'interface. La résistance de transfert de charge R_t est définie comme l'intersection de la boucle avec l'axe réel à basse fréquence. La capacité de la double couche C_{dl} est déterminée à partir de la relation : f_c : étant la fréquence correspondant au sommet du demi-cercle [200].

$$C_{dl} = \frac{1}{2\pi f_{max} R_t} \quad (3)$$

III.4. Détermination des paramètres thermodynamique.

Isotherme d'adsorption.

L'isotherme d'adsorption exprime le rapport entre le taux de recouvrement d'une interface par l'espèce adsorbée et la concentration de l'espèce en solution. L'isotherme d'adsorption le plus utilisé est de *langmuir*, ce prototype, suppose qu'il existe à la surface un nombre fixe de sites énergétiquement identiques, chacun de ces sites ne peut adsorber qu'une seule particule et lorsque les interactions entre les particules adsorbées sont négligées, l'énergie d'adsorption est constante. La vitesse d'adsorption V_{ads} est proportionnelle à la concentration en inhibiteur C_{inh} et à la fraction de sites d'adsorption non occupés $(1-\theta)$, elle est représentée par l'équation suivante :

$$V_{adc} = K_{adc}(1 - \theta)C_{inh} \quad (4)$$

θ : Représente la fraction de sites occupés par l'inhibiteur ($0 < \theta < 1$).

Inversement, la vitesse de désorption est proportionnelle à la fraction de sites occupés θ par les molécules adsorbées et elle est représentée par l'équation suivante :

$$V_{des} = K_{des}\theta \quad (5)$$

À l'équilibre, les deux vitesses sont égales, ce qui nous donne l'équation de l'isotherme de Langmuir suivante :

$$\frac{\theta}{1 - \theta} = \frac{K_{ads}}{K_{des}}C_{inh} = bC_{inh} \quad (6)$$

La fraction de sites occupés θ ou ce qu'on appelle le taux de recouvrement de la surface est donnée par cette formule :

$$\theta = \frac{bC_{inh}}{1 + bC_{inh}} \quad (7)$$

b désigne le coefficient d'adsorption.

Après un réarrangement, on trouve l'équation suivante :

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{1}{b} + C_{inh} \quad (8)$$

Synthèse bibliographique

Expérimentalement, le tracé de C_{inh}/θ en fonction de C_{inh} est une droite ce qui indique que l'adsorption de l'inhibiteur à la surface du métal obéit à l'isotherme de Langmuir.

CHAPITRE II :
Protocoles et méthodes.

PARTIE I : Présentation de *LS*.

Les caractères végétatifs de la plante *LS*, notion sur l'organe à étudier

I. Prélude de *Lepidium sativum*.

I.1. Étude des caractères de l'appareil végétatif du *LS*.

Le Cresson alénois est une espèce universellement connue comme salade et possède des formes spontanées et sauvages [22]. Elle est appelée aussi Cresson de jardin où "habarachad", selon l'importance de ses graines. Cette plante est considérée ainsi parmi les plantes médicinales populaires utilisées dans plusieurs pays, notamment les pays arabes [201]. C'est une plante vivace comestible à croissance rapide, avec une saveur d'arôme acidulée, elle est plus souvent utilisée comme garniture ; ses organes végétatifs (les graines, les feuilles et les racines) sont économiquement importants [45].

I.2. Description de la plante *LS*.

Lepidium sativum, est une plante dressée, glabre, herbacée annuelle qui pousse pour atteindre jusqu'à 15-45 cm de hauteur, présentant beaucoup de branches [202].

Les feuilles de *LS* sont basales, de 12 cm × 9 cm, elles ont de longs pétioles et ayant une forme en lyre colinéaire lancéolée alterne irrégulièrement pennées, la longueur de pétiole est de 4 cm, les folioles de 5-11 ovales, à contour ou ob-ovales, pennatifidées, dont les lobes sont généralement irrégulièrement dentés, légèrement poilus au-dessus des feuilles et glabres en dessous, des folioles de feuilles supérieures devenant progressivement linéaires, parfois lobées ou dentées [203].

Les fleurs sont pédicelles, avec une longueur de 3-5 mm [204], elles ont quatre sépales distincts et quatre pétales. Les étamines sont des six (tetradynamous), avec un seul pistil dont l'ovaire super et 4 carpelles, avec une placentation pariétale. Les stylets sont courts ou absents, ils présentent deux stigmates.

Les fruits de *LS* sont ronds ou ovales, aplaties siliques de 4-6 mm × 3-5.5 mm, de couleur vert pâle à jaunâtre, leurs marges en forme d'aile, apex émarginé, à déhiscence par 2 valves, les cotylédons formés de 3 folioles, dépliant spatulés dont les latéraux sont plus petites que celle du centre [23], elles ont une capsule modifiée, s'ouvrant généralement par deux soupapes latérales (ayant un septum central appelé silique (long et mince) ou silicule (court et trapu). La disposition des cotylédons est principale dans la classification taxonomique [46].

Les graines de *LS* sont petites, de forme ovale et triangulaire à une extrémité, lisse et d'environ 2

à 3 mm de long et de 1 à 1.5 mm de large, brun rougeâtre, une flèche présente sur les deux surfaces, s'étendant jusqu'à deux tiers vers le bas, une aile avec une légère extension sur les bords de semences lorsqu'ils sont trempés dans l'eau, l'enveloppe des semences se gonfle et se couvre avec un mucilage transparent incolore [204]. Les graines sont mucilagineuses, rouges et elles ont un goût âcre [156]. La poudre des graines est crémeuse de couleur jaune, sous le microscope les graines ont montré des murs, épais, uniformes, avec un albumen huileux, présentant un nombre de fragments brun rougeâtre en tenant des téguments de coloration rougeâtre [205].

Selon des caractéristiques anatomiques de la feuille, la tige et la racine, (Jurgen et al Povalijaeva (1986)) ont classé *LS* en trois types (subvar *Cativum*, subvar *Crispum* et subvar *Latifolium*) [206].

I.3. Classification taxonomique (*Lepidium sativum* Linn).

Lepidium sativum appartient à famille des Brassicacées, anciennes crucifères. Cette famille regroupe des plantes dicotylédones, comprenant 300 genres et 1500 espèces [207].

Tableau 15 : Classification botanique de la plante *LS*[208].

Règne	Plantae
Division	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Sub Classe	Polypétale
Series	Thalamiflore
Ordre	Pariétale
Famille	Crucifères (Brassicaceae)
Genre	<i>Lepidium</i> Linn
Espèce	<i>Lepidium sativum</i> Linn Sp

I.4. Partie végétale étudiée.

La graine de *LS* est irrégulièrement globulaire à conique, en contour, enfermant une radicule sphérique à l'extrémité plus étroite et des plis horizontaux de cotylédons empilés l'un au-dessus de l'autre à sa base, chacun est incorporé avec des rangées de faisceaux vasculaires. L'embryon entier occupe presque toute la cavité intérieure comme le montre la section transversale (figure 29) et il est encerclé extérieurement par le mucilage [209].

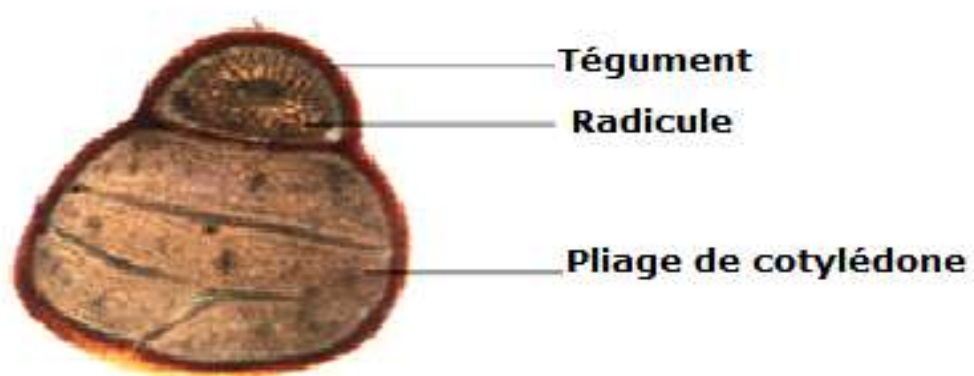


Figure 23 :Section transversale T.S de la graine Cresson alénois[210].



Plante entière



Feuilles



Fleurs



Graines

Figure 24 : Quelques organes végétaux du *LS*

**PARTIE II : Procédures expérimentales d'identification chimique et
caracterisation qualitative des *GLS*.**

Les procédés et matériaux utilisées d'extraction, de screening et d'analyses des métabolites secondaires.

I. Collecte et séchage de la plante.

Les graines de la plante *LS* ont été récoltées en juillet 2014 dans différentes régions du Maroc, à savoir, la région de Souss-Massa, la région Marrakech-Safi, la région Rabat-Salé-Kénitra et la région de Casablanca-Settat. Cette sélection est réalisée selon un programme lancé dans notre laboratoire matériaux, nanotechnologie et de l'environnement LMNE, dans le but d'étudier le maximum de plantes à l'échelle nationale. Les différentes *GLS* ont été séchées à l'ombre, à l'abri de l'humidité à une température ambiante. L'identification, le dosage, des activités antioxydantes et la mesure de l'inhibition anticorrosive des *GLS* ont été procédé au LMNE tandis que les activités biologiques ont été réalisées au laboratoire de biochimie à la faculté des sciences de Rabat, au laboratoire des eaux et forêt de Rabat et également à la fondation marocaine pour l'innovation et la recherche scientifiques avancées (MAScIR).

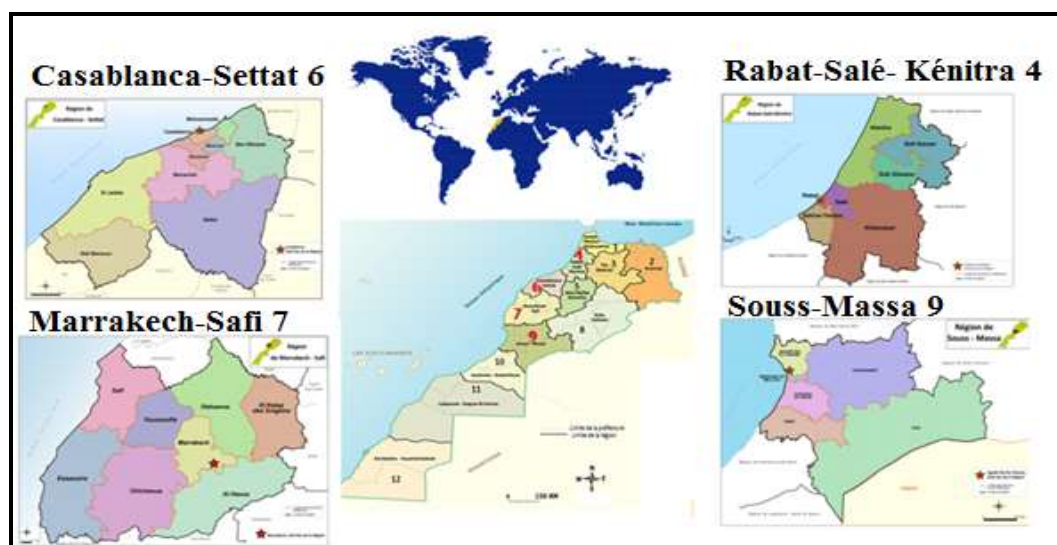


Figure 25 : Situation géographique du Maroc avec les régions étudiées

Tableau 16 : Données géographiques des sites de collecte *GLS*

	TF	HZ	BA	RM
Altitude (m)	993	500	547	306
Temperature en moyenne (°C)	16.6	19.9	17.2	17.7
Précipitation (mm)	235	242	401	436

II. Méthode d'extraction et conservation.

Méthodes & matériels

Dans notre travail, nous avons utilisé des graines de la plante *LS* et procédé à des extractions organiques par trois méthodes différentes (macération, extraction à froid et Soxhlet), après avoir prélevé les échantillons et calculer leurs rendements, celles-ci ont été conservées dans un réfrigérateur à 4°C. Finalement, une analyse des huiles obtenues a été réalisée par CPG/SM, HPLC et un screening phyto-chimique a été réalisé pour les extraits organiques.

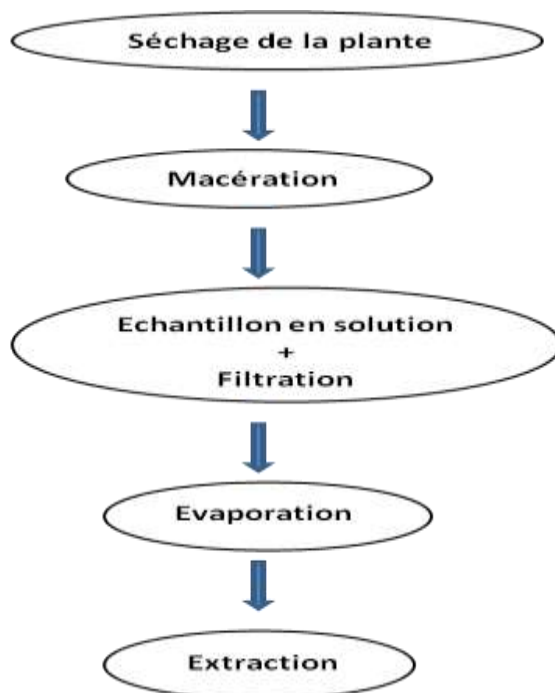


Figure 26 : Extraction par macération.

Extraction par Macération

La macération (extraction solide-liquide) consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le solvant aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Le protocole de la macération de cette plante est le suivant [211]:

- Peser 10 grammes de la matière végétale
- Agitation.
- Laisser macérer pendant 24 h, ensuite filtrer sur un papier-filtre de Wathman.
- Récupérer le filtrat dans un flacon
- Évaporation qui permet à éliminer le solvant sous vide.

Extraction par Soxhlet (voir figure 8)

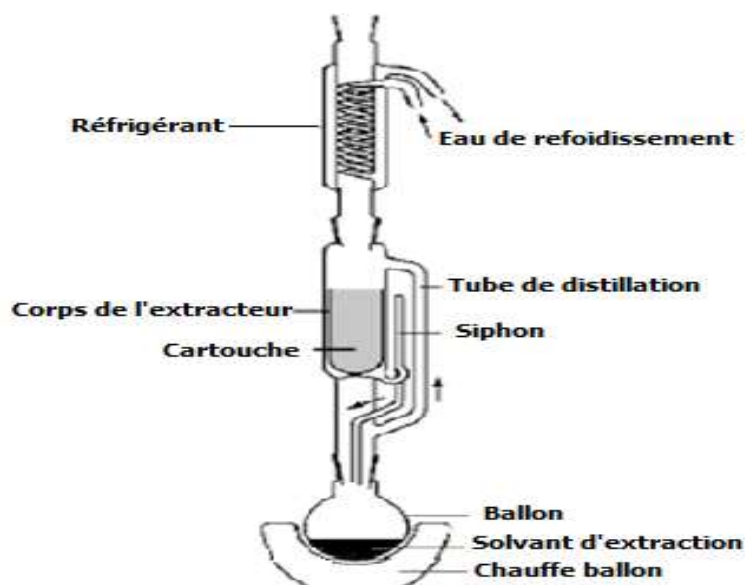


Figure 27 : Schéma de l'extracteur Soxhlet.

L'appareil Soxhlet est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. L'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. L'extraction par Soxhlet de l'huile à partir de nos différentes *GLS* s'effectue d'une manière convenable cyclique hexanique jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première. La récupération des huiles de différentes régions du Maroc de notre plante a été précédée par l'extraction solide-liquide en utilisant 30 g de la matière végétale à extraire (séchée et broyée) sont pesés et mis dans la cartouche du Soxhlet. L'hexane est introduit dans le ballon puis chauffé pour commencer l'extraction. L'extraction est stoppée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair. Le temps de traitement est de 5 à 6 heures. Le contenu du ballon (solvant+matières solubilisées) est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 65°C pour éliminer tous le solvant d'hexane.

Extraction à froid

L'extraction par écrasement à froid, c'est un procédé mécanique, consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression manuelle pour faire sortir l'essence logée dans les graines de *lépidiumsativum*.

III. Détermination du taux d'humidité.

La thermogravimétrie ou de perte au séchage sont employées pour mesurer le taux d'humidité ou de la teneur en eau d'un échantillon référence pharmacopée européenne.

Le matériel végétal est séché à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante. Le taux d'humidité, dans nos échantillons *GLS*, a été déterminé par le procédé de dessiccation dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique à une température de 105°C pendant 05 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

$$T_h (\%) = \frac{x-y}{x} \times 100 \quad (9)$$

X : poids de l'échantillon séché.

Y : poids de l'échantillon après déshydratation.

T% : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

IV. Détermination du rendement d'extraction.

Selon la norme AFNOR, le rendement en huile ou en extrait est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile (ou extrait) obtenue après l'extraction et la masse initiale de la matière végétale utilisée (g). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est donné par la formule [212]:

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse d'huile ou (extrait sec)}}{\text{masse de matière végétale}} \times 100(10)$$

Les extraits obtenus sont gardés au réfrigérateur à 4°C dans des flacons en verre brun fermé hermétiquement pour les préserver de l'air et de la lumière.

V. Analyse de la composition chimique des huiles végétales.

Conditions opératoires

Identification des acides gras

La composition en acides gras a été déterminée en utilisant la méthode ISO 5508 [213]. Avant l'analyse, les acides gras AG ont été convertis en esters méthyliques d'acides gras FAME en recherchant une solution d'huile à 60 mg et 3 ml d'hexane avec 0.3 ml de 2N d'hydroxyde de potassium méthanolique. Les AG ont été analysées par CPGen utilisant une chromatographie Varian CP-3800 (Varian Inc.) fourni avec un FID. La colonne utilisée était une colonne de CP-Wax 52CB (30 mx 0.25 mm à l'iode, VarianInc, Middelburg, Pays-Bas). Le gaz porteur était de l'hélium et le débit total de gaz était de 1 ml/min. La température initiale et finale de la colonne était de 170°C et 230°C, respectivement et la température était augmentée par paliers de 4°C/min. La température de l'injecteur et du détecteur était de 230°C. Les données ont été traitées en utilisant un Varian Star Workstation v 6.30 (Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA). Les résultats ont été exprimés en pourcentage relatif de chaque AG individuelle présente dans l'échantillon.

Identification des stérols

La fraction stérolique est séparée des matières insaponifiables par chromatographie sur couche mince de gel de silice en utilisant comme phase mobile un mélange de n-heptane et d'éther diéthylique distillé (50 :50 v/v). La fraction stérolique est grattée puis mise dans un bécher contenant 10ml de chloroforme. Après filtration et évaporation du solvant, la fraction des stérols a été convertie en dérivés silylés (TMS) en utilisant un agent de silylation (50 µl de méthylimidazole dissout dans le MSHFBA)

Composition de stérol a été déterminée en utilisant la méthode ISO 6799 [214], après triméthylsilylation de la fraction stérolique brut, en utilisant un instrument Varian 3800 équipés d'une colonne ms VF-1 (30 m 9 id 0.25 mm) et d'hélium (débit 1.6 ml/mn) comme gaz porteur, la température de la colonne était de l'ismalmal à 270°C, la température de l'injecteur et du détecteur était de 300°C. La quantité injectée était de 1 µL pour chaque analyse. Les données ont été traitées en utilisant Varian Star Workstation v 6.30 (Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA).

VI. Identification des tocophérols.

La composition de tocophérol a été déterminée selon la méthode ISO 993615. Nous avons utilisé la chromatographie liquide à haute performance HPLC à l'aide d'une solution de 250 mg d'huile dans 25 ml de n-heptane. Les tocophérols ont été analysés par HPLC en utilisant des

instruments Shimadzu CR8A (Champ sur Marne, France) équipés d'une colonne C18-Varian (25 cm × 4 mm ; Varian Inc., Middelburg, Pays-Bas). La détection a été réalisée à l'aide d'un détecteur à fluorescence (longueur d'onde d'excitation 290 nm, longueur d'onde de détection 330 nm). L'éluant est un mélange 99 : 1 d'isooctane / isopropanol (V/V), débit de 1.2 ml/min.

VII. Étude phytochimique des extraits organiques.

Le criblage phytochimique

Les tests chimiques pour le criblage et l'identification des constituants chimiques bioactifs dans les graines de Cresson alénois ont été effectués avec des extraits préparés selon la procédure standard.

Mise en évidence des flavonoïdes [215]:

0.5 g de divers extraits ont été agités avec de l'éther de pétrole pour éliminer les matières grasses (couche lipidique). Le résidu dégraissé a été dissous dans 20 ml d'éthanol à 80% et filtré. Le filtrat a été utilisé pour les essais suivants : 5 ml de la solution d'ammoniaque diluée a été ajoutés à la portion de filtrat aqueux de chaque extrait végétal, suivi de l'addition de H₂SO₄ concentré. L'apparition de la coloration jaune indique la présence de flavonoïdes.

Mise en évidence des stéroïls, polyterpènes [216]:

L'utilisation du réactif Liebermann permet d'identifier ces composés, un anneau bleu-vert entre les couches indique la présence de stéroïdes et un anneau rose-violet indique la présence de terpènes.

Mise en évidence des polyphénols [215]:

Ajouter à 1 ml de divers extraits de solvant de l'échantillon, 2 ml d'eau distillée suivie de quelques gouttes de solution aqueuse de chlorure ferrique à 10%. La formation d'une couleur bleue ou verte indique la présence de phénol.

Mise en évidence des tannins [217]:

La recherche des tannins de catéchine se fait à partir du réactif Stiasny. 5 ml de chaque extrait a été évaporé à sec. Après avoir ajouté 15 ml de réactif Stiasny le résidu, le mélange a été maintenu au bain-marie à 80°C pendant 30 minutes. L'observation d'un précipité en gros flocons caractérisait les tanins de catéchine.

Méthodes & matériels

Pour les tanins galliques, nous avons filtré la solution précédente. Le filtrat a été recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'ajout de FeCl_3 pastilles provoque l'apparition d'une coloration bleu-noir intense, indiquant la présence de tanins galliques.

Mise en évidence des alcaloïdes [218] :

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir du réactif de Bouchardat (réactif iodoiodé) et de Dragendorff (réactif iodobismuthate de potassium). 6 ml de chaque solution a été évaporé à sec. Le résidu est absorbé dans 6 ml d'alcool à 60°. L'addition de 2 gouttes de réactif Dragendorff sur la solution alcoolique a provoqué un précipité ou une couleur orange. L'ajout de 2 gouttes de réactif Bouchardat sur la solution alcoolique a provoqué un précipité de couleur brun rougeâtre et a indiqué une réaction positive.

L'ajout de 2 gouttes de réactif de Mayer (mercuri-iodure de K^+) a provoqué une précipitation de couleur jaunâtre

Mise en évidence des saponosides [219]:

Pour trouver les saponines, nous avons contribué dans un tube à essai, 10 ml d'extraits totaux aqueux. Le tube a été agité pendant 15 secondes et laissé reposer pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de saponines.

Dosage des composées phénoliques

Nous avons utilisé un volume de 0.5 ml de chaque échantillon est introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai et 2.5 ml du réactif de Folin- Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau distillée) ont été additionnés. Ensuite, 4 ml de carbonate de sodium 7.5 % (m/v) est ajoutée. Par la suite, les différentes solutions ont été maintenues au bain-marie pendant 30 minutes. L'intensité de la coloration bleue produite a été mesurée à l'aide de spectrophotomètres à la longueur d'onde 765 nm.

La coloration bleue produite, présente un maximum d'absorption aux environs de 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composées phénolique présente dans l'échantillon.

Les densités optiques des solutions préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

Les résultats obtenus sont exprimés en (mg E d'acide gallique/g d'extraits) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée d'acide gallique (voir équation 11).

$$Abs = a \times [AG] + b \quad (11)$$

« a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine du droit étalon [220].

Dosage des flavonoïdes.

La méthode de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ et la soude $NaOH$ sont utilisés pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. $AlCl_3$ forment un complexe jaune très stable avec les groupements hydroxydes OH des flavonoïdes et la soude $NaOH$ forment un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm [221].

Dans des tubes à essai a été introduit successivement 1 ml de l'échantillon et 6.4 ml d'eau distillée. Au temps initial, 0.3 ml de la solution de Nitrite de sodium 5% m/v a été ajouté. Après 5 min, 0.3 ml d' $AlCl_3$ 10% m/v a été additionné et le mélange a été laissé au repos pendant 6 min. Ensuite, 2.0 ml de la soude 1.0 M ont été ajoutés et la solution a été bien mélangée et laissée au repos pendant 30 min. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde égale à 510 nm.

L'absorbance de la solution rose est déterminée à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. La teneur en flavonoïdes totaux de différentes plantes est exprimée en équivalents de mg de quercétine (mg QE) par gramme d'extraits.

Dosage des Tanins.

Nous avons mélangé un volume de 50 μ l de chaque échantillon avec 1.5 ml de la vanilline 4% (préparé avec du méthanol), puis 750 μ l de l'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés. La solution bien mélangée a été incubée à la température ambiante dans l'obscurité pendant 20 min. Les absorbances ont été mesurées à 500 nm.

Des aliquotes de 0.1 à 1.0 ml de la solution mère (0.5 mg/ml) de catéchine et des extraits ont été introduits dans une série de tubes à essai, le volume final dans chaque tube a été complété à 1.0 ml par addition de méthanol absolu. 1.5 ml de la vanilline à 4% solubilisé dans le méthanol et 750 μ l de l' HCl 12 M à 37% ont été ajoutés et à une minute d'intervalle à chaque tube de la série et mis par la suite au bain-marie à 30°C pendant 20 minutes. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de catéchine (mg EC) par gramme d'extraits.

PARTIE III : Méthodes d'essais pour l'évaluation de l'activité biologique.

Les protocoles expérimentaux pour déterminer les activités antibactériennes et antifongiques.

I. Détermination de l'activité antibactérienne.

I.1. Méthode par diffusion en milieu de culture gélosée.

La souche utilisée dans ce travail est la suivante : *R equi* (GK1 : CIP 105335), qui est une bactérie bacillus à gram positif pouvant infecter l'homme. L'infection chez ces patients ressemble aux signes cliniques et pathologiques de la tuberculose pulmonaire. À partir d'une nouvelle culture, nous réalisons une suspension bactérienne incubée à 30°C pendant 24 heures à l'étuve. Cette solution représente l'inoculum bactérien qui sera utilisé tout au long de l'étude. Pour les tests de l'activité antibactérienne, nous avons utilisé la technique de diffusion sur gélose TSA, disque papier de 6 mm diamètre, ont été placés dans des flacons à vis, stérilisés dans un autoclave à une température de 121°C pendant 20 minutes. Les milieux sontensemencés avec quelques millilitres d'inoculum de manière à couvrir toute la surface de la gélose. Les tests ont été réalisés selon la méthode de Vincent aromatogramme [222].

Activité bactéricide et lyse cellulaire.

Le germe *R equi* a été cultivé dans un bouillon nutritif TSA incubé pendant 24 heures à une température de 30°C. Des séries de milieu de culture liquide ont été préparées, l'une d'elles contenant 200 µl de bactéries viables inoculées, nous avons ajouté l'extrait AE de la plante étudiée agité et incubé à une température de 30°C, (les extraits AE utilisés sont dilués dans 1% de DMSO), la lecture de la densité optique de chaque culture pour concevoir la croissance bactérienne, nous prenons 2.5 ml d'échantillon de mesuré à une longueur d'onde de 600 nm de chaque point à des intervalles de huit heures d'incubation durant l'expérience, mais pour détecter une presse génétique matérielle nous avons centrifugé 1.0 ml de chaque tube 1200 g pendant 5 minutes pour éliminer toutes les traces de bactéries. On a remis en suspension 250 pi du surnageant avec 750 pi de PBS pour mesurer l'absorption à 260 nm du spectrophotomètre UV lamspec/visible à chaque instant. Nous avons utilisé des bactéries non traitées et traité avec de la pénicilline-streptomycine PS (100 µl/ml-100 mg/ml) [223].

I.2. Méthode de puits.

Cette méthode permet de mieux la diffusion des extraits dans le milieu améliorant ainsi le contact avec les organismes [223].

Tableau 16 : Collection de souches

Souches	Référence	Collection
<i>E coli</i>	K12	Laboratoire de microbiologie alimentaire, UCL, Belgique : MBLA.
<i>S aureus</i>	CECT 976	Collection de cultures de type Espagnole : CECT.
<i>P aeruginosa</i>	IH	Institut d'hygiène, Rabat, Maroc : IH.
<i>R equi</i>	GK1	Collection Institut pasteur CIP 105335.

Les boîtes de pétri vides et stériles, sont coulés 10 ml du milieu Muller Hinton Agar MHA. Après la gélification du milieu, des puits cylindriques stériles, ayant un diamètre de 8 mm, sont posés dans les boîtes. Un tube contenant 6 ml du milieu Luria-Bertoni LB, additionné de 0.8% d'agar, est ensemencé avec la bactérie à étudier. La concentration finale de la bactérie est d'environ 10^6 cfu/mL. Le LB agar est alors coulé doucement dans les boîtes de pétri. Les cylindres sont enlevés après solidification du milieu créant des puits qui seront remplis avec 50 μ l d'extraits à tester. Les boîtes de Pétri sont prés incubés pendant 2h à 4°C dans le but de ralentir la croissance bactérienne et d'améliorer la diffusion d'extraits. Enfin, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des puits. Chaque essai a été répété deux fois. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne d'extraits, est ainsi déterminé par l'apparition de zones d'inhibition circulaire transparente autour des puits.

I.3. Méthode de dilution pour la détermination de CMI et CMB

La concentration minimale inhibitrice CMI est définie comme le niveau minimum de concentration de composé qui produit une réduction de 90% de la croissance des colonies microbiennes. La CMB est définie comme le niveau minimum de concentration du composé qui produit une réduction d'au moins 99.9% de la croissance des colonies microbiennes. Les CMI et CMB ont été déterminées par les méthodes de la densité optique et de la plaque d'agar de microdilution. Les inocula ont été préparés en inoculant le milieu LB avec une culture pendant la nuit d'espèces bactériennes en incubation pendant trois heures. 1 ml d'aliquote d'inoculum a été ajouté à 9 ml de milieu de LB contenant 0.15% d'agar. Des molécules ont été ajoutées pour donner les concentrations finales suivantes : 8, 4, 2, 1, 0.5 et 0.25 mg/ml. Après 24 h d'incubation à 37°C, la densité optique des bouillons à 615 nm a été mesurée avec un spectrophotomètre UV-visible. Une courbe vierge d'absorbance à 620 nm. Après incubation, l'observation de la gamme permet de déterminer la CMI, qui correspond à la plus faible

concentration en extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne. Ensuite à chaque puits sont ajoutées 50 µl du milieu LB à 0.15% d'agar inoculés à partir d'une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance 10^6 cfu/ml. Les puits servant de contrôle ne contiennent pas d'extrait. Les plaques sont ensuite incubées à 37°C pour la croissance de la bactérie, pendant 18h. Après, on ajoute la résazurine 10 µl pour faciliter la lecture de la CMI par le fait de changement de coloration qui se traduit par la croissance bactérienne. Quand la résazurine garde sa couleur, cela correspond à la CMI.

II. Détermination de l'activité biologique par méthode la serie de dilution

Les dilutions sont préparées à 1/10e, 1/25e, 1/50e, 1/100e, 1/200e, 1/300e, 1/500e dans cette solution d'agar. En éprouvettes, contenant chacune 13.5 ml de solide environnement TSA pour les bactéries, et le PDA pour les champignons, stérilisé à l'autoclave pendant 20 min à 121°C et refroidi à 45°C, on ajoute aseptiquement 1.5 ml de chaque dilution de façon à obtenir les concentrations finales de 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/3000, 1/5000 (v/v). Tubes pour disperser correctement l'huile dans l'environnement culturel. Avant de les verser dans des boîtes de Pétri. Témoins, contenant l'environnement culturel et l'agar à 0.2% seulement, sont également préparés. L'ensemencement est réalisé avec l'aide d'un semoir calibré pour retirer le même volume d'inoculum. Ce dernier est présenté dans le bouillon de culture de 24 h pour les bactéries et la suspension en eau physiologique des spores pendant 7 jours dans le PDA pour les champignons. L'ensemencement est fait, par le dépôt de fragments de 1.0 cm³ de diamètre, L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 h pour les bactéries à 25°C pendant 7 jours pour les champignons.

PARTIE IV : Capacité antioxydante.

Méthodes d'essais pour le dosage et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne.

I. Test de DPPH.

La réduction du DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits [224]. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants.

Expérimentalement nous avons introduit dans des tubes, 2.5 ml de chaque échantillon 0.5 ml de la solution méthanolique de DPPH 2.0 mM fraîchement préparée ont été ajoutés. Après agitation au vortex, les mélanges ont été placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 517 nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique. Les résultats de l'activité antioxydante sont calculés en pourcentages de neutralisation des radicaux libres I % en utilisant la formule (12) [225, 226]

$$I\% = [1 - (\text{Abs Echantillon} - \text{Abs Contrôle}) / \text{Abs Contrôle}] \times 100 \quad (12)$$

Où % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon ;

Abs : Absorbance du contrôle.

Les concentrations en huile/extrait et en l'acide ascorbique, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'indice d'IC₅₀ (La concentration d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du DPPH initiale à 50%) [225].

II. Test de l'ABTS

Des solutions mères de 2.0 mM ABTS et 70 mM K₂S₂O₈ en volumes égaux ont été autorisés à se tenir dans le noir pendant 24 h à la température ambiante. Avant le dosage, la solution ABTS a été diluée dans l'éthanol pour donner une absorbance de 0.700 ± 0.02 à 734 nm. Ensuite, 2.0 ml des solutions résultantes a été autorisé à réagir avec 200 µl des extraits de plantes à différentes concentrations. Le pourcentage de neutralisation est déterminé comme suit : le mélange réactionnel, agité et absorbé a été mesuré à 734 nm après 30 min. Le même protocole a été utilisé

Méthodes & matériels

avec l'acide ascorbique à diverses concentrations. Le pourcentage d'inhibition d'ABTS^{•+} a été calculé et comparé avec acide ascorbique.

La capacité antioxydante totale des extraits de plantes ainsi déterminée est exprimée en µg/ml.

La solution radicalaire d'ABTS est préparée fraîchement [227]

III. Méthode de FRAP

Les concentrations d'extraits des solutions mères et le standard (acide ascorbique) ont été mélangés avec 2.5 ml de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de potassium ferricyanure (1.0%, poids/volume). Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 2.5 ml d'acide trichloroacétique (10%, poids/volume) ont été ajoutés au mélange réactionnel, centrifugés à 3000 g pendant 10 minutes. Le pourcentage de neutralisation est déterminé comme suit : la couche supérieure de la solution (2.5 ml) a été mélangée avec de l'eau (2.5 ml) et 0.5 ml de chlorure ferrique F_eCl_3 (0.1%, poids/volume). L'absorbance a été mesurée à 700 nm après 30 min [228]

IV. Analyses statistiques des teneurs métaboliques et l'efficacité anti-radicalaire

Analyses statistiques. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics [229] pour tester la signification statistique des tests Tukey à un niveau de confiance de 95.0%, et les résultats ont été présentés sous forme de moyenne ± erreur standard de la moyenne. Le calcul de la corrélation de Pearson a été effectué à l'aide de Microsoft Excel 2010 pour estimer les résultats des tests DPPH, ABTS et FRAP obtenus pour la teneur totale en phénol (TPC), la teneur totale en flavonoïdes (TFC) et la teneur totale en tanin (TTC).

PARTIE V : Evaluation de l'activité anticorrosive.

Procédures expérimentales appliquées pour mesurer la capacité anticorrosive : Description des matériaux et les étapes de préparation de l'échantillon, Milieu d'études, Techniques d'évaluation de l'efficacité inhibitrice de corrosion.

I. Méthode d'évaluation initiale de la corrosion.

I.1. Gravimétrie

La méthode simple consiste à mesurer la perte de masse ΔP supportée par un échantillon de surface S , pendant le temps t d'immersion dans une solution corrosive maintenue à température constante. La vitesse de corrosion est donnée par la relation suivante [230]:

V peut être exprimé en $\text{mg.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$.

$$V = \frac{\Delta P}{S.t} \quad (13)$$

$$E(\%) = \frac{V - V_{inh}}{V} \times 100 \quad (14)$$

L'efficacité inhibitrice d'un composé organique est donnée par la relation suivante : où V et V_{inh} sont les pertes de poids de l'échantillon après immersion dans la solution respectivement sans et avec inhibiteur. Les dimensions des échantillons d'acier sont de 1.0 cm 0.3 cm 0.9 cm (cas étudié). Ces échantillons sont immergés dans l'acide HCl 1.0 M, sans et avec addition de différentes concentrations d'huile GLS ou extrait. L'efficacité inhibitrice est déterminée après 6 h d'immersion, à une température de 30°C à l'air atmosphérique. La valeur de l'efficacité inhibitrice donnée est évaluée par la moyenne de trois essais effectués dans les mêmes conditions pour chaque concentration.

II. Evaluation des paramètres électrochimiques

Les mesures électrochimiques ont été effectuées au laboratoire à l'aide de Volta (Tacussel-Radiometer PGZ 100) potentiostate et contrôlés par modèle logiciel Tacussel d'analyse de corrosion (Volta Master 4). La cellule de corrosion utilisée avait trois électrodes. L'électrode de travail était en acier au carbone C35 d'une surface de 0.27 cm². Tous les potentiels donnés dans cette étude se sont référés à cette électrode de référence. L'électrode de travail a été immergée dans des solutions de tests pendant 30 minutes pour établir un potentiel de circuit ouvert à l'état stable (E_{ocp}). Tous les tests électrochimiques ont été réalisés dans des solutions aérées à 303 K. Les expériences ont été menées dans la gamme de fréquences à haute limite de 100 kHz et

différentes limites basses 10 mHz au potentiel de circuit ouvert, en appliquant une tension alternative de 10 mV.

II.1. Mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique.

La technique permet aussi d'expliciter les processus chimiques ou électrochimiques se développant à travers les films formés. A partir des diagrammes d'impédance réalisés au potentiel de corrosion E_{corr} , nous accéderons à R_t , à C_{dl} et donc au taux d'inhibition dans les conditions opératoires utilisées. Les résistances de transfert de charge R_t , sont calculées à partir de la différence d'impédance aux hautes et basses fréquences sur l'axe des réels, comme suggérées par (Tsuru et Haruyama) [231].

$$E_{R_t} \% = \frac{(R_t - R_t^\circ)}{R_t} \times 100 \quad (15)$$

Où R_t et R_t° sont les résistances de transfert de charge dans les solutions inhibées et non inhibées respectivement.

II.2. Polarisation potentiodynamique.

Le comportement électrochimique de l'échantillon d'acier au carbone dans une solution non inhibée et inhibée a été étudié en enregistrant des courbes de polarisation potentiodynamique anodique et cathodique. Les mesures ont été effectuées dans la solution de HCl 1.0 M contenant différentes concentrations de l'inhibiteur testé en changeant automatiquement le potentiel d'électrode de -800 à 0 mV en fonction du potentiel de corrosion à une vitesse de balayage de 2 mVs⁻¹. Les segments linéaires de Tafel des courbes anodiques et cathodiques ont été extrapolés au potentiel de corrosion pour obtenir des densités de courant de corrosion I_{corr} . b_a et b_c sont les pentes de Tafel anodiques et cathodiques. L'efficacité d'inhibition a été évaluée à partir des valeurs I_{corr} mesurées en utilisant la relation :

$$E\% = \frac{1 - I'_{corr}}{I_{corr}} \times 100 \quad (16)$$

Où I_{corr}' et I_{corr} sont les densités de courant de corrosions inhibées et non inhibées, respectivement, déterminées par extrapolation des lignes de Tafel cathodiques au potentiel de corrosion E_{corr} .

III. Méthodes d'analyse de surface du substrat étudié.

La topographie de métal/solution faisant appel à différentes méthodes, dont certaines fournissent une information au niveau microscopique (microscope optique et/ou microscopie électronique à balayage MEB, d'autres renseignent à l'échelle atomique (microscopie à force atomique), nous avons utilisé la microscopie électronique à balayage. Cette méthode est basée sur la genèse des interactions électrons-matière, susceptible de créer des images à haute résolution de la surface d'un échantillon, afin de démontrer si l'inhibition est due à la formation d'un film de molécules organiques à sa surface.

Conditions opératoires

Les examens ont été procédés à la fondation marocaine pour l'innovation et la recherche scientifiques avancées (MAScIR) sur un microscope électronique à balayage Quanta 200 FEI Company qui fonctionne en mode ESEM. La tension d'accélération est fixée à 20 kV. L'ensemble est doté d'un système complet de microanalyse-X (détecteur EDX-EDAX) et d'un détecteur des électrons rétrodiffusés. Il permet de donner la composition chimique de l'échantillon avec une limite de détection allant jusqu'au Bore. Le volume analysé est de l'ordre de μm^3 . L'interaction du faisceau d'électrons du microscope avec un solide, peut conduire à l'excitation des atomes constituant l'échantillon. Leur retour à l'état fondamental s'accompagne d'une libération d'énergie, avec production de rayons X secondaires caractéristiques des atomes des éléments excités. L'analyse des pics fournis par le spectromètre renseigne sur la composition de l'échantillon.

CHAPITRE III :

Résultat et discussion.

PARTIE I : Résultats préliminaires

Rendement et composition chimique de l'huile et extraits.

Resultats et discussion

Lépidium sativum espèce comme la plupart des plantes, est le siège de transformations métaboliques importantes, qui contribuent à la croissance, au développement et à la protection de son environnement. Ses composés vitaux sont donc sujets à des études chimiques et biochimiques.

I. Calcul du taux d'humidité.

Notre travail commence par le séchage des *GLS* récoltées, à une température ambiante. Les graines sont placées ensuite à l'étuve à une température de 105°C pendant 05 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La pesée d'un 1.0 g, desséché et refroidi dans un dessiccateur, a donné les résultats suivants selon la relation ci-dessous :

$$T_h \% = \frac{m_0 - m_1}{m_1} \times 100 \quad (17)$$

Comme les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80% d'eau. Nous avons réduit cette teneur en eau afin d'assurer sa bonne conservation [232].

Tableau 17 : Taux d'humidité de différentes régions des *GLS* exprimé en %.

	(GLS)			
	TF	BA	RM	HZ
Moyenne des taux d'humidité	9.88±0.03	9.53±0.10	9.24±0.05	9.51±0.04

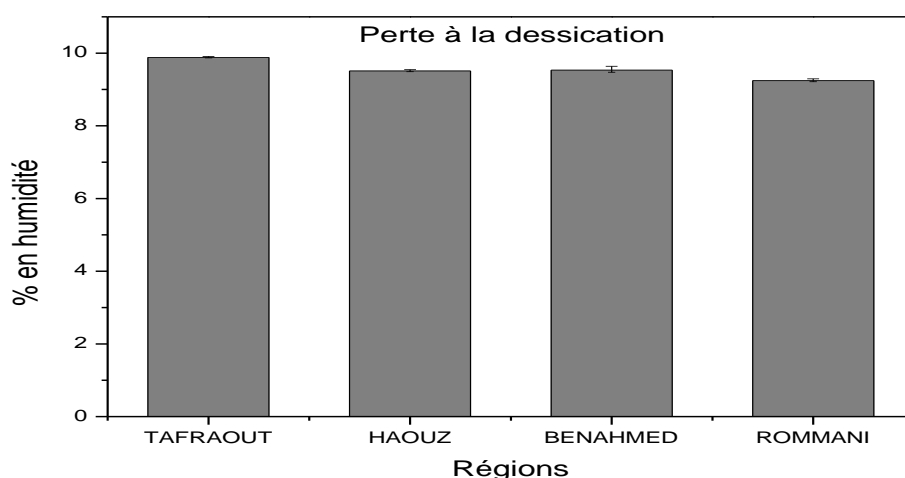


Figure 28 : Histogramme montrant le taux en humidité par méthode perte à la dessiccation des *GLS*.

Les résultats de cette analyse ont révélé un taux d'humidité inférieure à 10% pour les différentes régions des *GLS* (voir tableau 18 et figure 28). La teneur en eau est presque identique pour les quatre régions, avec un taux d'humidité légèrement supérieur dans la région TF (9.88 ± 0.03), les régions HZ et BA ont un taux d'humidité respectivement de (9.51 ± 0.04 ; 9.53 ± 0.10) et de (9.24 ± 0.05) pour la région de RM. Les résultats enregistrés inférieurs à 10%, confèrent donc à notre plante une meilleure conservation à long terme.

D'après le tableau 18 et la figure 28, les données enregistrées sont identiques, on peut conclure que les régions n'influent pas sur le taux d'humidité.

II. Calcul des rendements des huiles et des extraits des *GLS*.

La récupération des extraits des *GLS* a été réalisée par :

-Soxhlet des *GLS*, utilisant l'hexane comme solvant pour les quatre régions du Maroc. 30 g de la matière végétale broyée et mise dans la cartouche du Soxhlet jusqu'à épuisement (durant 5 à 6 heures). Le contenu est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 65°C.

-La macération est réalisée séparément dans plusieurs solvants organiques. 150 g de *GLS*, séchés au four à 70°C, sont macérés dans le solvant organique considéré et laissés au repos pour décantation. Les filtrats sont récupérés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 65°C.

Le rendement en HV est exprimé en pourcentage par l'expression (voir figure 29).

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les rendements en HV obtenus dans les quatre stations sont très intéressants (voir figure 30 et tableau 19), avec un maximum d'environ $19.94\pm 0.002\%$ et un minimum de $19.13\pm 0.001\%$. Toutes ces valeurs étaient inférieures que ceux de Diwakar et al. [233] qui a conclu que l'huile totale la teneur en solvant extrait de *LS* était de 21,54%, et le l'expression à froid était de 12.60%. La teneur en huile du *GLS* est partiellement inférieure à celle d'autres graines oléagineuses comestibles telles que moutarde (25-40%), colza (40-45%) et graines de lin (40-45%) de la famille des crucifères [233]. De meme ces rendements sont comparables aux résultats obtenus avec d'autres HV comme les semences de l'atelier de département des sciences horticoles, Université d'agriculture sciences, Bangalore 21.54% [233]

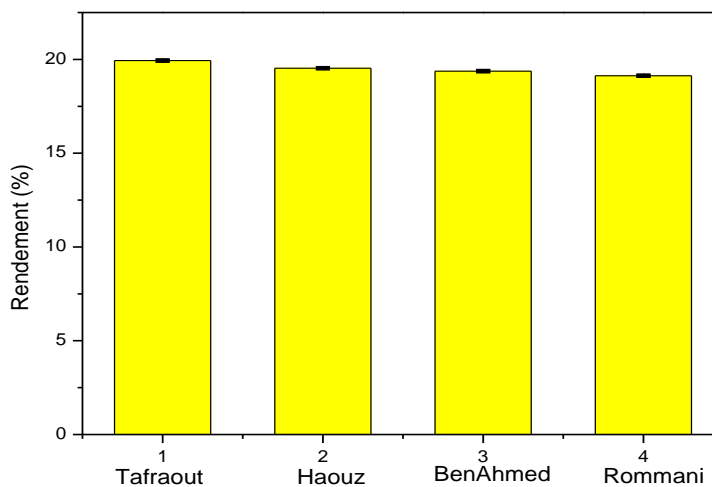


Figure 29 : Rendement en HV récupéré par Soxhlet pour les quatre régions du Maroc des GLS.

Tableau 19 : Enregistrement des résultats des rendements, des HV récupérés par Soxhlet pour les 04 endroits du Maroc GLS.

Régions	Moyennes
TF	19.940±0.002
HZ	19.533±0.002
BA	19.374±0.010
RM	19.132±0.001

Dans le cas des extraits par solvant, le rendement moyen des extraits MeOH et EtOH récupéré par macération des GLS des quatre régions, a révélé une productibilité considérable pour les deux solvants utilisés. L'extrait MeOH est maximum pour la région TF 31.89±0.89% et un minimum pour la région RM de 19.03±1.18%. L'extrait EtOH est maximum pour la région TF de 21.21±1.01%, et un minimum pour la région BA 10.56±0.55%.

Les résultats révélés montrent que l'origine géographique influe sur les pourcentages du rendement

Resultats et discussion

Tableau 20 : Rendement en extrait MeOH et EtOH, des régions étudiées du Maroc des *GLS*.

Régions	Rendement végétale (%)	
	Moyenne des extraits MeOH	Moyenne des extraits EtOH
TF	31.90±1.14	21.21±1.01
HZ	21.28±0.80	17.34±0.67
BA	19.91±0.54	10.56±0.55
RM	19.03±1.18	15.61±0.66

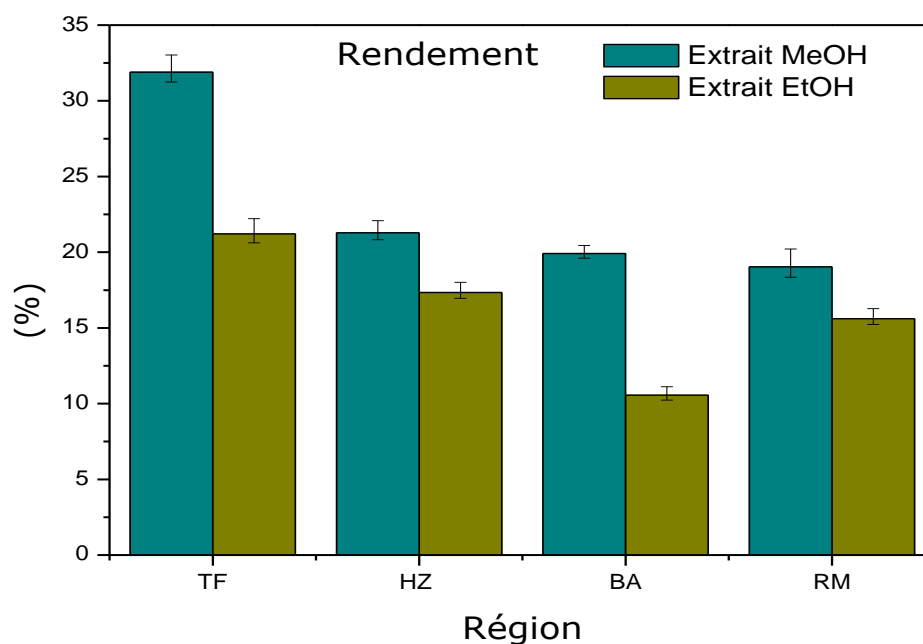


Figure 30 : Rendement moyen des extraits MeOH et EtOH des *GLS* récupérés par macération pour les quatre régions du Maroc.

D'autres solvants sont utilisés pour la macération des *GLS*. L'extraction des métabolites a été réalisée dans l'eau, le propanol, le méthanol, l'éthanol, le chloroforme, le dichlorométhane, l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle, acétonitrile le butanol et l'acétone. Nous avons obtenu de meilleur rendement avec l'eau comme solvant (voir Tableau 20 et figure 30). Les résultats obtenus pour cette région de TF, a enregistré des rendements de l'ordre du 33% par l'extrait l'eau, suivi par les rendements d'extraction obtenus par le butanol et le propanol 27%, de même pour le chloroforme 23% et le dichlorométhane 22%. Ces résultats sont en accord avec le gradient de polarité de ces solvants.

Resultats et discussion

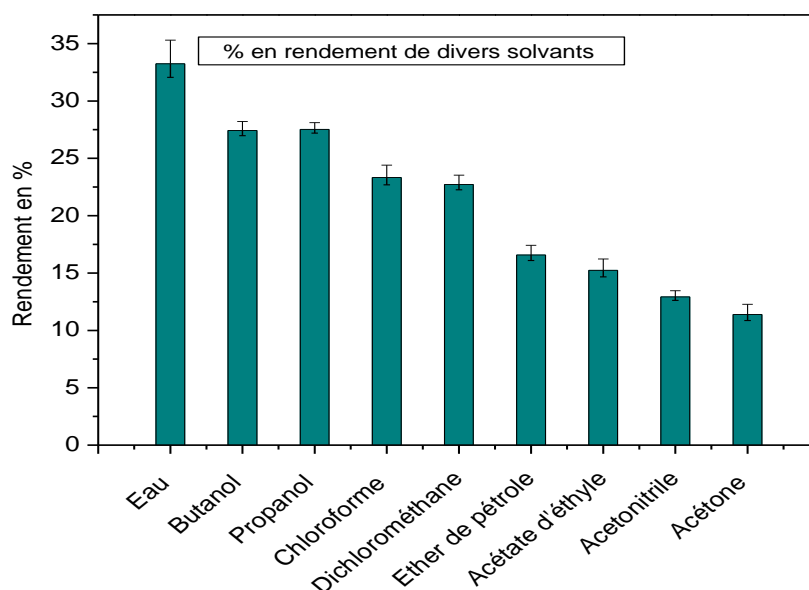


Figure 31 : Rendements en extrait par différents solvants récupérés par macération des GLS de la région TF.

Tableau 21 : Résultats des rendements obtenus par macération de différents solvants des GLS de la région TF.

Solvants		Moyenne du Rendement (%)
Eau	Polaire protique	33.24±2.06
Propanol		27.53±0.58
Butanol		27.43±0.77
Acétone		11.38±0.89
Acétate d'éthyle	Polaire Aprotique	15.23±0.98
Dichlorométhane		22.72±0.80
Acétonitrile		12.92±0.53
Chloroforme	Apolaire Aprotique	23.32±1.08
Ether de pétrole		16.76±1.10

Nos résultats des rendements des quelques extraits sont comparables aux données suivantes voir tableau 22 ci-dessous :

Tableau 22 : Comparaison des rendements

Extraits	GLS étudiée en %	Autre GLS en %
MeOH	31.90	12.60
Acétate d'éthyle	15.23	0.49
Chloroforme	23.32	0.29
Eau	33.24	11.53
Référence	Non appliquée	[234]

Nos resultats enregistrent des rendements très remarquables par rapport aux valeurs ultérieurs

III. Etude de la Composition chimique de l'huile

Les paramètres physico-chimiques fournissent des informations sur le stockage, la stabilité structurelle et la qualité des huiles. Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle, aromatisée. Cette couleur est principalement due à la présence de certains pigments comme la chlorophylle et les caroténoïdes qui sont involontairement co-extraits pendant le processus d'extraction de l'huile [233].

Dans cette partie, nous avons traité séparément les résultats obtenus par les huiles végétales obtenus par *GLS* de toutes les régions étudiées. Les différentes huiles ont été identifiées par analyse chromatographique (GC et GC/MS).

La composition en acides gras a été déterminée en utilisant la méthode ISO 5508. Avant l'analyse, les acides gras ont été convertis en esters méthyliques d'acides gras. 60 mg et 3.0 mL d'hexane sont mélangés avec 0.3 ml de d'hydroxyde de potassium méthanolique 2N. Les résultats ont été exprimés en pourcentage relatif de chaque AG individuelle présent dans l'échantillon.

La composition en stérol a été déterminée en utilisant la méthode ISO 6799, après triméthylsilylation de la fraction stérolique brut, La quantité injectée était de 1.0 μ L pour chaque analyse.

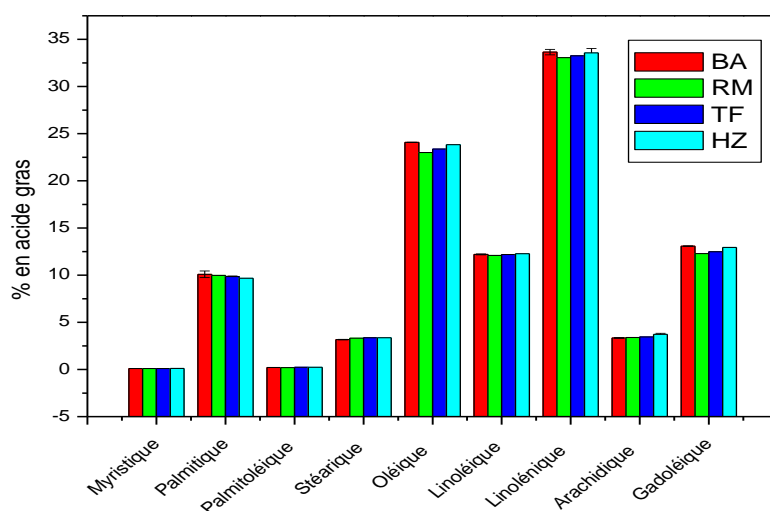


Figure 32 : Histogramme de la composition chimique des acides gras de HV des GLS des régions marocaines

Resultats et discussion

Les résultats de l'analyse de la plante oléagineuse de *GLS* ont permis d'identifier 17 composants représentant les esters méthyliques d'acides gras avec leurs pourcentages. Les constituants principaux sont : acide linoléique 33.41%, acide oléique 23.61%, acide gadoléique 12.71%, acide linoléique 12.22% et acide palmitique 9.89%. Cette composition est identique pour les quatre régions étudiées.

Nos recherches scientifiques menées dans les quatre stations n'ont montré aucun changement significatif des niveaux d'acides gras. L'origine géographique ne modifie donc pas la composition. Ces résultats confirment que les conditions climatiques n'ont aucune influence sur la composition en acides gras des huiles *LS* de différentes localités, et sont également cohérents avec les données acquises sur l'effet géographique sur la composition huile d'argan [85] et avec l'étude de l'effet de la géographie origine sur la composition en acides gras des huiles d'olive d'Italie [235]

D'autres résultats publiés, ont montré que le principal des acides gras était l'acide linoléique 42%, l'acide oléique 39.9%, l'acide linoléique 11.8, l'acide eicosanoïque 12%, l'acide stéarique 2.9% et l'acide palmitique 10.1%, ces résultats confirment l'accord avec les données rapportées par notre recherche [236].

De même les résultats ont montré que le principal stérol de l'huile est le β -sitostérol qui représente 49.64% de la quantité totale de stérols avec une légère supériorité pour la région BA. La présence de ces composés, a été détectée dans les autres régions avec des pourcentages différents. Région de TF, campesterol 23.80%, Δ -5 et Avenasterol 13.39%. Dans la région de HZ le Δ -5-Stigmastérol 3.85%, le cholestérol 3.69% et le stigmastérol 2.6%. Parmi les stérols mineurs, le Δ -7 Avenasterol 0.35% et le 7-Stigmastérol 0.21% représentaient moins de 1% de la quantité totale de stérols.

Nos résultats indiquent une influence significative ($P < 0.05$) d'origine géographique sur les stérols totaux dans l'huile *LS*. Cela allait de 92.15% dans la région RM contre 99,58 dans la région TF. La composition en stérols de l'huile *LS* est donc influencée par son origine. Ceci est cohérent avec les résultats de Ben Temime et al., qui ont trouvé que l'origine géographique et les facteurs climatiques influencent la composition stérolique des huiles d'olive [237].

Resultats et discussion

Tableau 22 : Composition chimique en % des AG de l'HV des GLS des régions étudiées.

Acide	BA	RM	TF	HZ
Myristique C14 : 0	0.10±0.00 ^{ab}	0.10±0.00 ^a	0.10±0.00 ^a	0.11±0.00 ^b
Palmitique C16 : 0	10.09±0.35 ^a	9.98±0.00 ^{ab}	9.86±0.06 ^b	9.67±0.00 ^c
Palmitoléique C16 : 1	0.21±0.00 ^a	0.20±0.00 ^b	0.23±0.00 ^a	0.23±0.00 ^a
Stéarique C 18 : 0	3.17±0.03 ^a	3.32±0.00 ^b	3.37±0.00 ^b	3.37±0.00 ^b
Oléique C18 : 1	24.08±0.01 ^a	23±0.00 ^b	23.37±0.00 ^c	23.84±0.00 ^d
Linoléique C18 : 2	12.20±0.05 ^{ab}	12.09±0.00 ^a	12.19±0.00 ^{ab}	12.27±0.00 ^b
Linoléénique C18 : 3	33.65±0.29 ^a	33.07±0.00 ^b	33.26±0.00 ^c	33.57±0.46 ^a
Arachidique C20 : 0	3.34±0.04 ^a	3.39±0.00 ^a	3.45±0.00 ^a	3.72±0.11 ^b
Gadoléique C20 : 1	13.08±0.02 ^a	12.29±0.00 ^b	12.48±0.00 ^c	12.94±0.00 ^d
Acide gras saturé	16.72	16.79	16.72	16.87
Acide gras insaturé	83.25	80.65	81.53	82.85
Total en %	99.96±0.04	97.43±0.10	98.25±0.02	99.72±0.12

Les données sont la moyenne de trois répétitions (n=3e±SEM) ; les moyennes suivies de lettres en exposant similaires dans la même ligne ne sont pas différentes (P <0.05).

Tableau 24 : Composition chimique en % des stérols de l'HV des GLS des régions étudiées.

Sterol	TF	RM	BA	HZ
Cholesterol	4.00±0.01 ^a	2.80±0.00 ^b	3.93±0.00 ^c	3.99±0.00 ^a
Stigmasterol	2.49±0.27 ^a	2.13±0.03 ^b	2.20±0.00 ^b	2.40±0.00 ^{ab}
Campesterol	24.22±0.15 ^a	22.85±0.00 ^b	23.79±0.05 ^c	24.09±0.00 ^{ac}
5-Stigmasterol	4.07±0.03 ^a	3.66±0.02 ^b	3.60±0.00 ^b	3.81±0.00 ^c
β-Sitosterol	50.17±0.03 ^a	48.17±0.00 ^b	48.53±0.03 ^b	49.49±0.26 ^c
5-Avenasterol	13.36±0.32 ^a	12.21±0.01 ^b	12.66±0.00 ^{ab}	13.46±0.32 ^a
7-Stigmasterol	0.30±0.00 ^a	0.11±0.00 ^b	0.13±0.00 ^b	0.20±0.00 ^c
7-Avenasterol	0.50±0.01 ^a	0.20±0.00 ^b	0.31±0.00 ^c	0.36±0.00 ^d
Total sterol	99.58±0.16 ^a	92.14±0.04 ^b	95.15±0.10 ^c	97.80±0.48 ^d

Les données sont la moyenne de trois répétitions (n=3e±SEM); les moyennes suivies de lettres en exposant similaires dans la même ligne ne sont pas différentes (P <0.05).

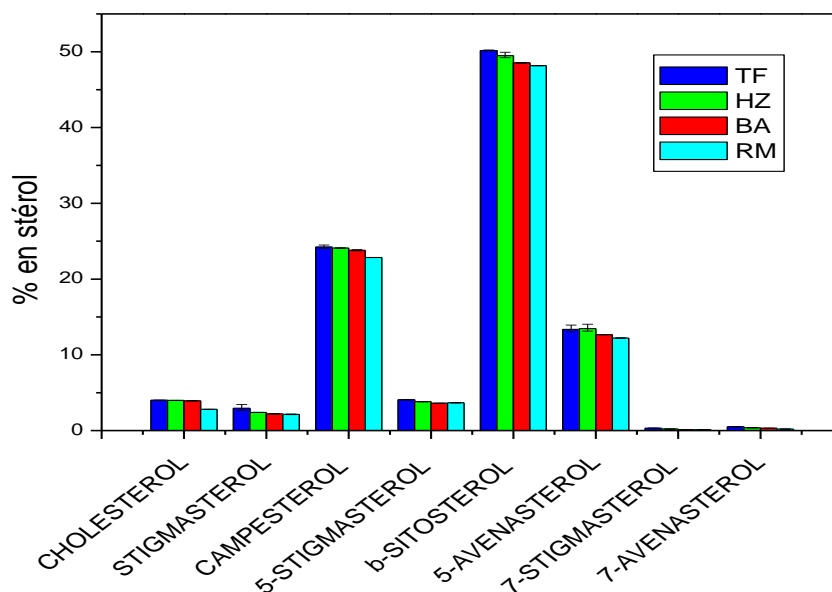


Figure 33 : Histogramme de la composition chimique des stérols de l'HV des GLS.

La composition de tocophérol a été déterminée selon la méthode HPLC, d'une solution de 250 mg d'huile hexanique des GLS dans 25 ml de n-heptane. L'éluant, utilisé était un mélange 99 : 1 d'isooctane/isopropanol V/V, débit de 1.2 ml / min.

Tableau 25 : Montrant la teneur des différents tocophérols des GLS des quatre régions du Maroc.

	TF	RM	BA	HZ
<i>α</i> -tocopherol	0.78±0.00 ^a	1.25±0.00 ^b	1.69±0.012 ^c	0.39±0.00 ^d
<i>β</i> -tocopherol	00±00 ^a	00±00 ^a	00±00 ^a	1.78±0.00 ^b
<i>c</i> -tocopherol	94.48±0.29 ^a	94.53±0.016 ^a	93.89±0.01 ^{ab}	93.73±0.06 ^b
<i>δ</i> -tocopherol	4.71±0.04 ^a	4.18±0.00 ^b	4.29±0.02 ^b	3.89±0.01 ^c
Total (mg/kg)	1877.8±0.2	1659.9±0.3	1510.4±0.2	1940.2±0.5

Les données sont la moyenne de trois répétitions (n=3e±SEM) ; les moyennes suivies de lettres en exposant similaires dans la même ligne ne sont pas différentes (P <0,05).

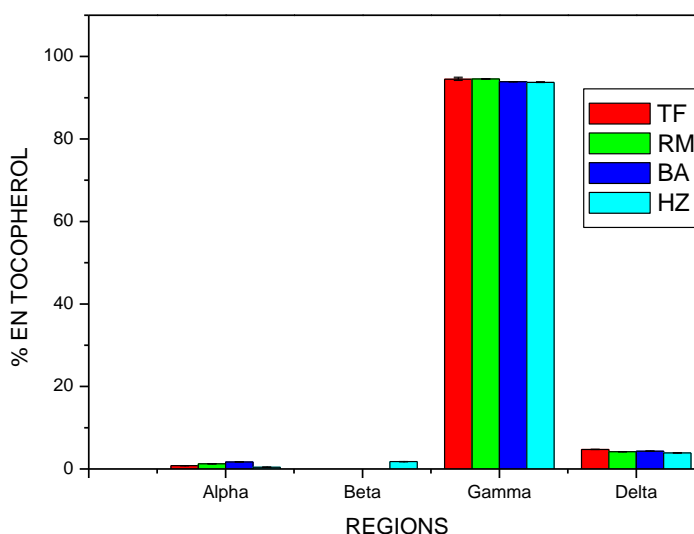


Figure 34 : Histogramme des différents tocophérols des GLS des quatre régions du Maroc.

Les résultats en tocophérol sont présentés dans la figure 37 et tableau 24. GLS contenait de grandes quantités tocophérols de 1940.26 ppm, mais des quantités minimales de 1510.4 ppm. L'évaluation qualitative des tocophérols dans les GLS des quatre régions par HPLC a montré la présence d' α , β , γ , et δ -tocophérol, respectivement. Parmi eux, γ -tocophérol est trouvé être le tocophérol prédominant, par contre, le β -tocophérol présent uniquement dans la région Haouz.

En comparaison, la région influence le contenu total du tocophérol, puisque les huiles de la région de HZ ont enregistré les valeurs, 1940.26 mg/kg, suivies des huiles de la région TF, 1877.8 mg/kg. Les huiles de la région BA ont enregistré les plus faibles teneurs totales en tocophérol à 1510,46 mg/kg. Toutes les valeurs sont supérieures à ceux trouvés par Zia-Ul-Haq et al.[238] pour le Pakistanais LS, 1397.3 mg/kg, mais comparable à ceux trouvés par Moser et al.[53]. À titre de comparaison, les huiles de base végétales brutes existantes avec des niveaux relativement élevés de c-tocophérol comprennent l'huile de maïs (942 mg/kg), l'huile de soja (273,3 mg/kg), huile d'argan (626 mg/kg) et huile de coton (387 ppm) [34]. L'inhabituellement élevé en % de γ -tocophérol peut rendre l'huile de cresson potentiellement utile, source industrielle de cet antioxydant naturel, où la vitamine E est une vitamine liposoluble, reconnue pour ses propriétés anti-oxydantes et son action protectrice des membranes cellulaires ; elle est utilisée pour conserver les préparations à forte teneur en huile car elle évite leur rancissement et leur permet ainsi de conserver de manière optimale toutes leurs propriétés. Il joue le rôle d'un conservateur naturel pour les phases huileuses. C'est également un actif aux propriétés anti-âges

qui bloque l'action des radicaux libre sur la peau, réduit notamment les dommages cellulaires liés à l'exposition aux UV et est un anti-inflammatoire.

IV. Screening phytochimique.

Le screening phyto-chimique a été réalisé sur différents extraits des solvants préparés à partir des *GLS*, pour mettre en évidence la présence de certains groupes de familles chimiques physiologiquement actifs dans notre plante. En effet, la phyto-chimie, qualitativement, est basée sur des réactions de coloration et de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques selon le protocole décrit dans la littérature par plusieurs auteurs [239].

Ce criblage a été effectué pour la première fois au Maroc pour les *GLS*. Les premiers essais ont été réalisés sur les graines de la région TF.

Les révélations expérimentales des tests effectués sur le matériel végétal, mentionnées dans le tableau (voir tableau 26), montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des stérols des terpènes et des phénols dans des *GLS*, avec une révélation unique et minime des stérols et terpénoïdes dans les extraits du MeOH et de l'acétone. Les alcaloïdes sont détectés par les méthodes Mayer, Bouchardât et Dragendoff, ont montré une quasi-présence pour tous les solvants utilisés lors des essais avec une signalisation très importante pour les extraits suivants : méthanolique, éthanolique, acétonique et propanolique.

Le tri phyto-chimique a également révélé la présence des tanins gallique par extraction à l'eau, à l'éthanol, au MeOH, EtOH, acétone et propanol. Les tanins catéchiques sont obtenus par l'acétone, l'eau et le MeOH.

La présence des saponisides a été révélée dans le chloroforme, l'acétate d'éthyle, l'éther de pétrole, l'éthanol, le butanol, le dichloromethane, le propanol et l'acetonitrile.

Les flavonoïdes sont présents dans les extraits de l'EtOH, l'eau, le chloroforme et du MeOH. Ils sont caractérisés par une couleur rouge intense au contact de la tournure de magnésium.

Des études précédentes, réalisées en Inde ont montré la présence de ces métabolites notamment dans l'extrait du méthanol. Cette étude a montré également la présence dans les extraits de glycosides cardiotoniques, d'anthroquinones glycosides, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de tanins, de protéines, de stéroïdes et de saponines dans la plante [240].

De même, des résultats, ont indiqué la présence de phytostérols, de flavonoïdes, de saponines, d'alcaloïdes, de tanins, de glucides, de stéroïdes, de phénols, de terpènes, de cholestérols, de

Resultats et discussion

protéines et de glycosides dans les *GLS* [241]. D'autres recherches ont démontré la présence d'alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, stéroïdes, tanins et glycosides comparables à nos résultats concernant les extraits MeOH et d'acétone, à l'exception des saponines et tanins galliques, qui ne sont pas révélés dans leurs extraits EtOH [241]. Le dépistage de *GLS* a indiqué la présence de triterpènes, d'alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, coumarines et saponines tandis que les glucosides cyanogènes et anthraquinone glucosides étaient absents [242]. L'extrait acétonique était déficient en saponines, cardiaques glycosides et flavonoïdes, alors que les saponines, les tanins et les flavonoïdes étaient absents dans l'extrait de propanol. L'extrait d'éther pétrole était positif pour les stéroïdes et saponines. Le dépistage phyto-chimique de l'extrait EtOH de *GLS* a montré la présence de tanins, glycosides cardiaques et stéroïdes et absence de saponines et les flavonoïdes [243]

Tableau 26 : Résultats des tests phyto-chimiques d'extraits des *GLS* de la région TF obtenus par macération.

Solvants	Flavonoïde	Tests Alcaloïdes			Stéroïds et Polyterpène	Tanins		Saponiside
		Mayer	Bouchardat	Dragendorff		Catéchique	Gallique	
Huile hexanique	+	+	+	++	-	-	-	-
Eau	+	+++	++	++	-	+++	Noir : (+)	-
Chloroforme	+	+	++	++	-	-	-	+
Acétate d'éthyle(AE)	-	+	++	+	-	-	-	+
Ether de pétrole	-	+	++	+	-	-	-	+
Ethanol	++	+++	++	++	-	-	Vert noir : (+)	+
Butanol	NA	+++	++	++	-	-	Verdâtre	+
Dichloromethane	NA	+	++	+	-	-	-	+
Méthanol	++	++	++	++	+	++	Noir : (+)	+
Acétone	NA	+++	++	++	+	+++	Noir : (+)	-
Propanol	NA	++	++	++	-	-	Verdâtre	+
Acetonitrile	NA	+	++	++	-	-	-	+

(+++): Test fortement positif

(++): Test positif.

(+): Test moyennement positif.

(-): Teste négatif

NA : non appliqué.

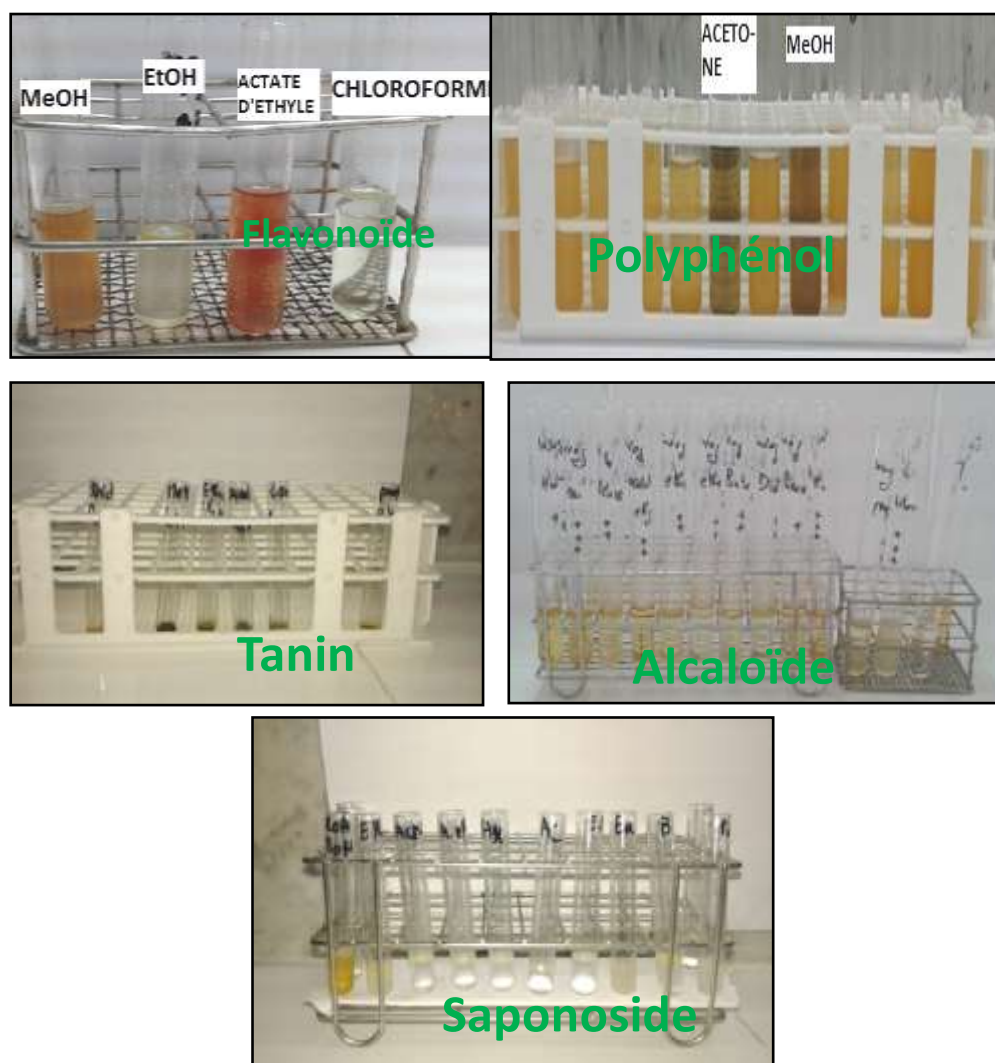


Figure 35 : Photos de quelques tests phyto-chimiques

V. Quantification et caractérisation des métabolites secondaires.

Nous avons procédé à la quantification et caractérisation des composés chimiques par une méthode spectrophotométrique analytique consiste à mesurer l'absorbance des extraits méthanoliques et éthanoliques des GLS des quatre régions selon la loi de Beer-Lambert.

Pour la détermination des polyphénols des GLS. Nous avons préparé un mélange de 0.5 ml de chaque échantillon de l'extrait MeOH ou EtOH des GLS, 2.5 ml du réactif de Folin- Ciocalteu et 4 ml de carbonate de sodium maintenues au bain-marie pendant 30 minutes. L'intensité de la coloration bleue produite a été mesurée à l'aide de spectrophotomètres à la longueur d'onde 765 nm. Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par milligramme

Resultats et discussion

d'extraits (μg equivalent d'acide gallique/mg d'extraits) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée d'acide gallique.

Concernant la détermination des flavonoïdes des *GLS* nous avons introduit un 1.0 ml de l'extrait MeOH ou EtOH des *GLS*, 6.4 ml d'eau distillée et 0.3 ml de la solution de Nitrite de sodium 5%. Après 5 min, 0.3 ml de Trichlorure d'aluminium 10% le mélange a été laissé au repos pendant 6 min. Ensuite, 2 ml de la soude 1.0 M ont été ajoutés, laissés au repos pendant 30 min. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde égale à 510 nm. La teneur en flavonoïdes totaux de différentes plantes est exprimée en équivalents de mg de quercétine par gramme d'extraits.

Pour la détermination des tanins des *GLS*, un mélange est formé par un volume de 50 μl de l'extrait MeOH ou EtOH des *GLS* avec 1.5 ml de la vanilline 4% puis 750 μl de HCl concentré ont été ajoutés. Incubé à la température ambiante dans l'obscurité pendant 20 min. Les absorbances ont été mesurées à 500 nm. Le dosage des aliquotes de 0.1 à 1 ml de la solution mère 0.5 mg/ml de catéchine et des extraits ont été introduits dans une série de tubes à essai, le volume final dans chaque tube a été complété à 1.0 ml par addition de méthanol absolu. 1.5 ml de la vanilline à 4% solubilisé dans le méthanol et 750 μl de l'HCl 12.0 M à 37% a été ajouté et à une minute d'intervalle à chaque tube de la série et mis par la suite au bain-marie réglé à 30°C pendant 20 minutes.

V.1. Dosage des polyphénols

Le tableau 27 ci-dessous résume les résultats obtenus des teneurs en phénols totaux, des extraits bruts MeOH et EtOH des *GLS* des quatre régions étudiées.

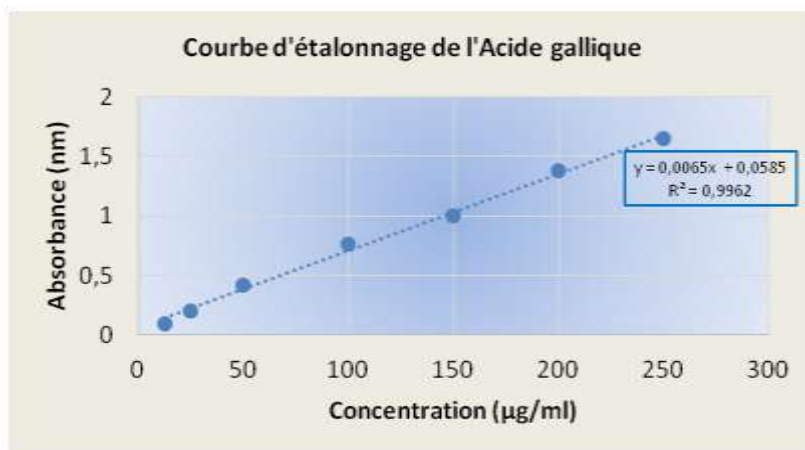


Figure 36 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique

Resultats et discussion

V.2. Dosage des flavonoïdes

Le tableau 27 ci-dessous résume les résultats obtenus des teneurs en flavonoides, des extraits bruts MeOH et EtOH des GLS des quatre régions étudiées.

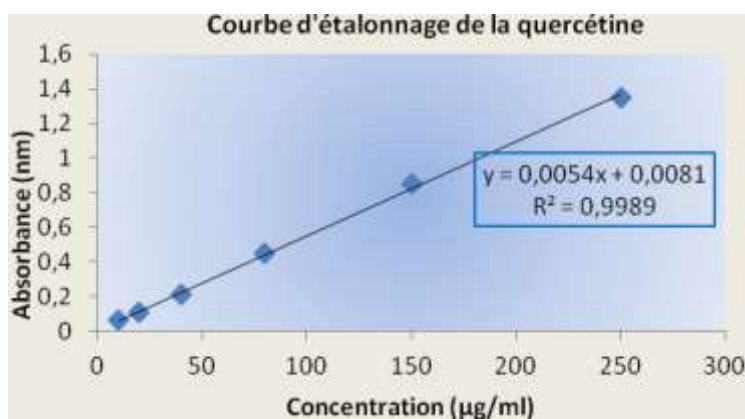


Figure 37 : Droite d'étalonnage de la Quercétine.

V.3. Dosage des tanins.

Le tableau 27 ci-dessous résume les résultats obtenus des teneurs en tanins, des extraits bruts MeOH et EtOH des GLS des quatre régions étudiées.

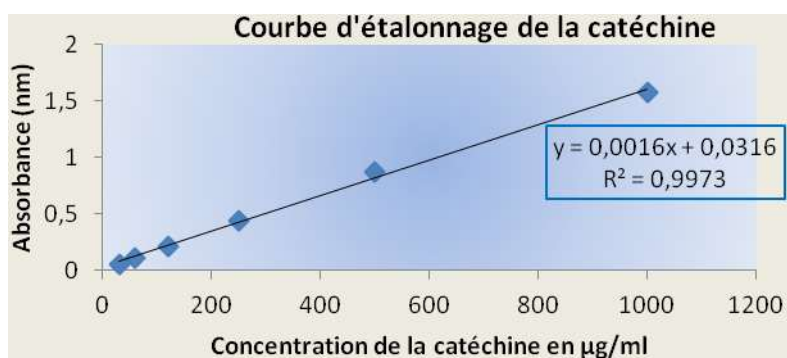


Figure 38 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Resultats et discussion

Tableau 27 : Teneur totale en phénols, flavonoïdes et tanins dans l'extrait MeOH et EtOH des quatre régions étudiées.

		Polyphénols (mg EAG/g extrait)	Flavonoïdes (mg EQ/g extrait)	Tannins (mg EC/g extrait)
TF	MeOH	94.48±1.82 ^a	37.63±2.14 ^a	26.50±0.07 ^a
	EtOH	86.48±0.22 ^b	32.51±0.81 ^b ^c	27.79±0.074 ^b
HZ	MeOH	83.36±0.98 ^{bc}	33.58±0.33 ^{ab}	25.87±0.072 ^a
	EtOH	80.28±0.28 ^c	29.24±0.47 ^c	26.02±0.31 ^a
BA	MeOH	69.46±0.09 ^d	24.85±0.48 ^d	31.50±0.11 ^c
	EtOH	65.15±1.07 ^e	23.92 ±0.64 ^{de}	23.41±0.25 ^d
RM	MeOH	59.40±0.62 ^f	21.09±0.21 ^{de}	12.85±0.56 ^e
	EtOH	52.79±0.30 ^g	20.04±0.04 ^e	8.33±0.11 ^f

Les résultats du dosage des polyphénols, flavonoïdes et tannins totaux dans nos extraits sont représentés dans le tableau 27 et les courbes étalons de l'acide gallique, de la quercétine et de la catéchine sont représentées dans figures (36, 37 et 38).

La détermination des phénols totaux, des flavonoïdes et les tanins ont été calculés à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, en utilisant l'acide gallique, la quercétine et catéchine comme normes, respectivement. On peut le voir dans le tableau que la teneur totale en phénol des échantillons varie de 52.79 à 94.48 mg de EAG/g d'extrait. Parmi les zones étudiées, le TF avait la teneur en phénol la plus élevée, 94.48 mg EAG/g d'extrait, alors que la proportion la plus faible a été trouvée dans la RM, 52.79 mg de EAG/g d'extrait. La différence considérable de le contenu phénolique peut être dû à des facteurs environnementaux tels que comme période de maturité, climat, emplacement, température, productivité, maladies, partie végétative et agressivité environnementale [244]. En outre, les précipitations continuent d'affecter le contenu phénolique [245]. Une corrélation positive est enregistrée entre le polyphénol et l'altitude, tandis qu'une corrélation négative est marquée entre le phénol total et les précipitations. L'augmentation du contenu phénolique des plantes sous l'eau a été soulignée [246].

Presque tous les échantillons se sont avérés riches en flavonoïdes. La teneur totale en flavonoïdes variait de 37.63 en TF à 20.04 mg EQ/g d'extrait dans la RM. Ce test montre que la fraction méthanolique du BA contient la plus forte teneur en tanins condensés, avec une valeur de 31.50 mg EC/g d'extrait. D'autre part, le RM La fraction EtOH a enregistré le niveau le plus bas à 8.33 mg EC/g extrait. Ce changement s'interprète par le fait que l'extraction des tanins condensés dépend de l'origine des semences, le solvant utilisé et les conditions opératoires.

PARTIE II : Résultats sur l'activité biologique.

Détermination de l'effet des germes par différents méthodes qualitative et quantitatives.

I. Activité antibactérienne.

Dans ce chapitre nous avons utilisé différentes méthodes afin de détecter le pouvoir biologique des *GLS* de la région Taфраout.

La détermination de l'activité antimicrobienne par diffusion en milieu de culture gélosée est effectuée par la souche : *R equi* de culture jeune, en suspension bactérienne incubée à 30°C pendant 24 heures à l'étuve sur un milieu nutritif gélosé TSA, en utilisant les extraits des *GLS* de certains solvants organiques. La lecture est réalisée en mesurant les diamètres d'inhibition observés.

Nous avons utilisé le même germe *R equi* cultivé dans un bouillon nutritif TSA pour déterminer l'effet bactériostatique et bactéricide. Nous avons mis en séries de milieu de culture liquides viables inoculées, ajouté l'extrait d'acétate d'éthyle des *GLS* ; la lecture de la densité optique de chaque culture pour concevoir la croissance bactérienne, mesurée à une longueur d'onde de 600 nm. Et pour détecter une presse génétique matérielle nous avons centrifugé 1 ml de chaque tube. Et on a remis en suspension 250 pi du surnageant avec 750 pi de PBS pour mesurer l'absorption à 260 nm du spectrophotomètre à chaque instant.

La méthode de puits est réalisée sur le milieu MHA avec une concentration bactérienne est d'environ 10⁶cfu/ml (d'*E coli*, *S aureus*, *P aeruginosa* et *R equi*). Les puits qui seront remplis avec 50 µl d'extraits MeOH des *GLS* et incubés à 37°C. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des puits.

Nous avons mesuré les CMI et CMB des extraits : MeOH, huile végétale, éther de pétrole et l'acétate d'éthyle des *GLS* ont été déterminées par les méthodes de la densité optique par l'utilisation de la plaque d'agar de micro-dilution, en inoculant le milieu LB avec une culture d'espèces bactériennes. 1 ml d'inoculum a été ajouté à 9 ml de milieu de LB. Nous avons réalisé les concentrations suivantes : 8, 4, 2, 1, 0.5 et 0.25 mg/ml. Après incubation à 37°C, la densité optique des bouillons à 615 nm a été mesurée avec un spectrophotomètre UV-visible. Les plaques sont ensuite incubées à 37°C pour la croissance de la bactérie, pendant 18h. Après on ajoute la résazurine qui indique la lecture de la CMI. Le résultat est révélé par changement de coloration qui se traduit par la croissance bactérienne. Quand la résazurine garde sa couleur, cela correspond à la CMI.

Resultats et discussion

Nous avons déterminé l'activité antimicrobienne aussi par méthode (série de dilution) de l'extrait MeOH et de HV des *GLS* contre les souches suivantes : (*E coli*, *B subtilis*, *M luteus*, *S aureus*) ; et antifongique par les champignons suivants : (*C versicolor*, *G trabeum*, *C puteana*, *P placenta*, *P digitatum*, *P expansu*, *A niger*). *In vitro*, la présence ou absence d'inhibition, est révélée par une série de dilutions descendantes.

I.1. Méthode par diffusion en milieu de culture gélosée

Dans cette étude, nous avons interprété les analyses biologiques *in vitro* des échantillons isolés de *GLS* au premier temps par méthode de diffusion en milieu de culture gélosée, pour la détermination du pouvoir antimicrobien par le biais des disques sur un milieu gélosé solide, l'activité antimicrobienne a été évaluée par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques (6 mm) contenant l'huile végétale HV à tester et également sur différents extraits obtenus des *GLS* vis-à-vis de la souche bactérienne, afin de préciser le caractère bactériostatique de nos échantillons sélectionnés ; ces tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI a été effectué sur la souche *R equi*, les résultats sont situés entre 0 et 16 mm, en particulier pour l'acétate éthyle AE 16.06 ± 0.11 mm comme donnée principale, suivi par extraits de méthanol 13.43 ± 0.51 mm, dichlorométhane 12.16 ± 0.28 mm et HV 13.16 ± 0.20 mm avec des mesures assez importantes pour acétone, éther de pétrole, butanol, éthanol, propanol et chloroforme dont les valeurs sont respectivement: (10.73 ± 0.64 ; 10.10 ± 0.17 ; 8.26 ± 0.30 ; 7.35 ± 0.21 ; 8.06 ± 0.11 ; 7.46 ± 0.41 mm). Hormis, l'extrait à l'eau nous n'enregistrons aucune action d'inhibition sur le germe *R equi* (tableau 28, figure 39).

De même, les antibiotiques de référence ont un effet actif sur le germe, montrant une inhibition (18.83 ± 0.28 et 33.00 ± 0.91 mm). Nous retenons que l'inhibition de AE à proximité de l'antibiotique Doxycycline (Doxycycline appartient à la classe des médicaments appelés tétracyclines. Il s'agit d'un ATB utilisé pour traiter certaines infections bactériennes ; il est utilisé le plus souvent dans le traitement les infections des poumons tel que la pneumonie, la bronchite, les infections des voies urinaires (cystite), des infections de la gorge (amygdalite), des infections cutanées ainsi que les infections transmissibles sexuellement). Le DMSO à 1% a été appliqué comme test négatif.

Tableau 28 : Montrant les résultats de l'effet de l'HV et des extraits des GLS sur le germe *R equi*.

Echantillons		Diamètre d'inhibition en mm Des moyennes
Eau	Polaire protique	0.00±0.00
Méthanol		13.43±0.51
Ethanol		7.35±0.21
Propanol		8.06±0.11
Butanol		8.26±0.30
Acétone (AE)	Apolaire aprotique	10.73±0.64
Dicloromethane (DCM)		12.16±0.28
Chloroforme	Apolaire aprotique	7.46±0.41
Huile végétale		13.16±0.20
Ether de pétrole		10.10±0.17
Témoin positif des antibiotiques (T ⁺)		
Doxycycline		18.83±0.28
Kanamycine		19.86±0.23
Erythromycine		22.73±0.25
Ciprofloxacine		29.83±0.28
Chlorophenicol		33.00±0.91
Témoin négatif (diluant)		
Demetylsulfovide (DMSO)		0.00±0.00

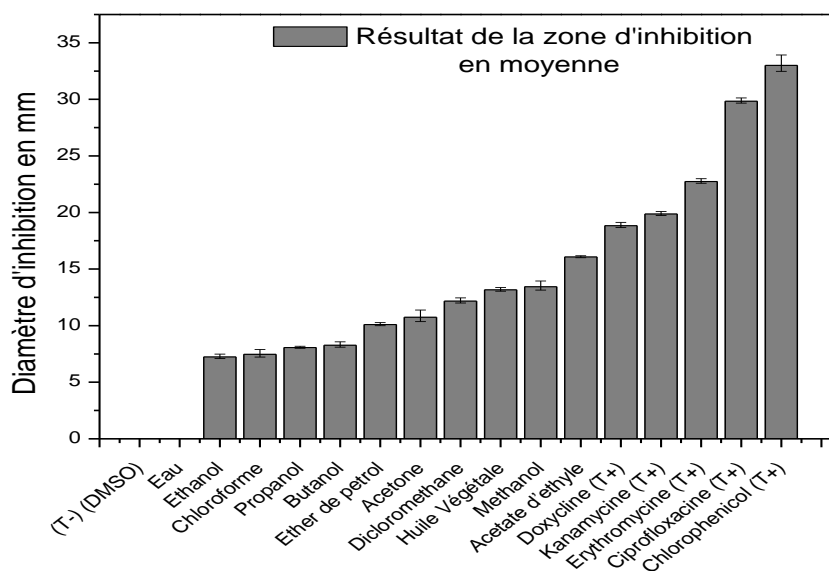


Figure 39 : Résultats des zones d'inhibition du *R equi* en mm des échantillons extraites des GLS.

Resultats et discussion

Nous avons ensuite testé l'effet bactéricide actionné par AE sur la bactérie *R equi*, en servant la pénicilline-streptomycine comme témoin positif. Le germe *R equi* a été déterminé en utilisant 20 µl de concentration de l'extrait AE contre 200 µl *R equi* traités, a montré un arrêt de croissance au cours de l'expérience. Nous lisons DO à 600 nm et nous observons la courbe avec le germe *R equi* qui a montré une grande sensibilité à tous les extraits AE plus de 50% d'inhibition de croissance en présence de l'extrait AE par rapport aux bactéries non traitées et c'est le même contrôle positif de la courbe en utilisant *PS* (figure 41).

Les bactériostatiques limitent la croissance des bactéries en interagissant avec la synthèse des protéines, la réplication de l'ADN contribuant à la multiplication bactérienne [247].

Par contre, la dispersion du matériel génétique indique une détérioration de la membrane cytoplasmique bactérienne qui a été examinée en analysant l'absorbance à 260 nm ADN et ARN par spectrophotométrie en infrarouge. L'étude de la lecture des cultures traitées avec l'extrait AE a montré une fuite significative par rapport aux bactéries non traitées. De même en ce qui concerne la *PS*, à AE extrait a révélé un dommage considérable à la membrane bactérienne (figure 40).

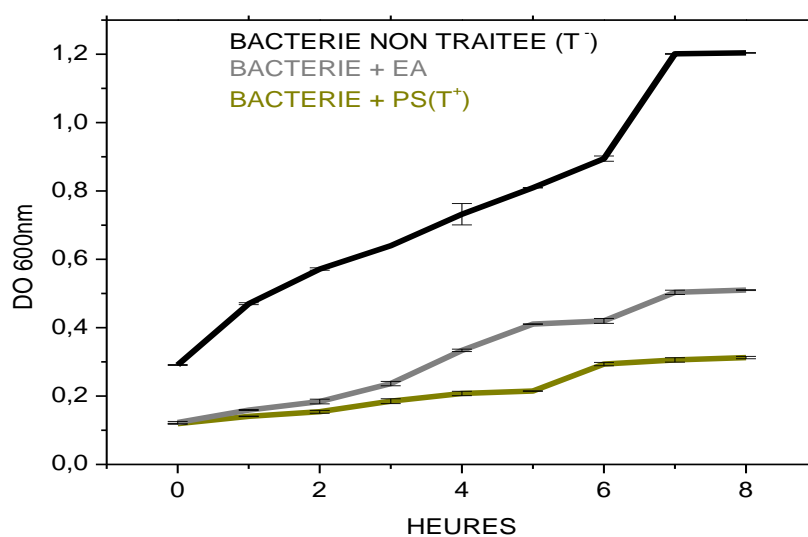


Figure 40 : Courbe montrant l'action de l'extrait AE et du *PS* sur *R equi*.

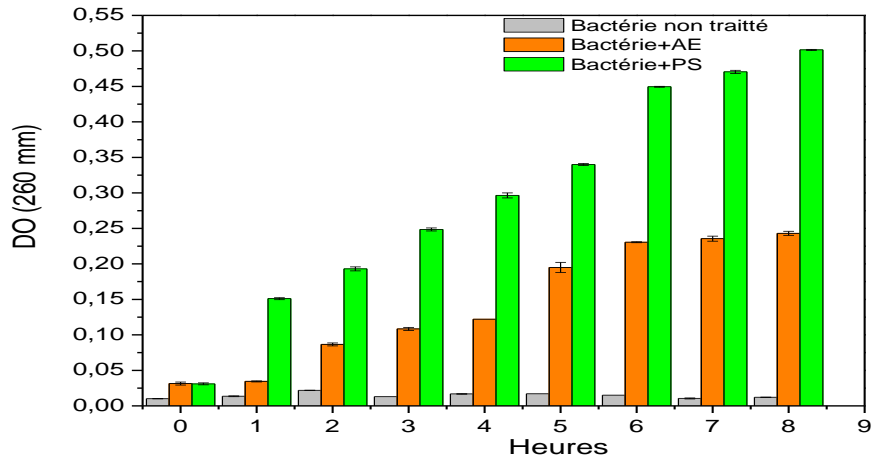


Figure 41 : Histogramme des résultats de l'action de l'extrait AE et du *PS* sur *R equi*.

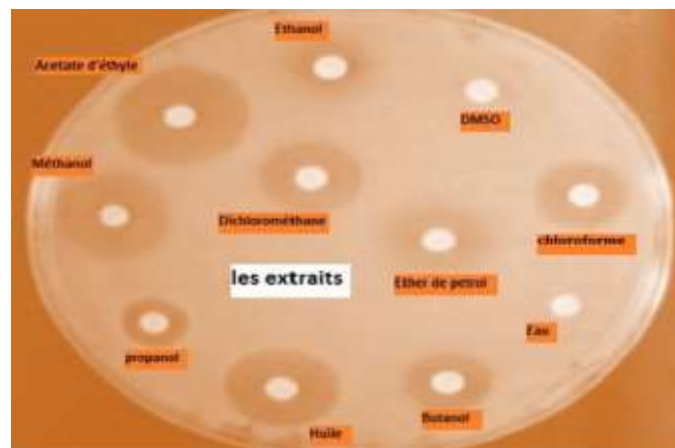


Figure 42 : Photo illustrant l'effet des échantillons de *GLS* contre *R equi*.

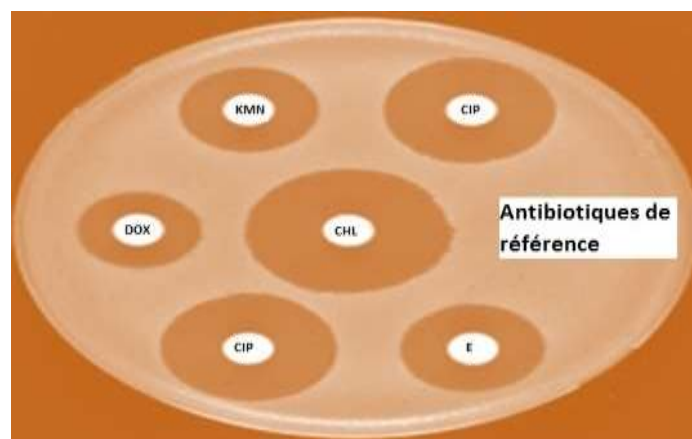


Figure 43 : Photo illustrant l'effet des témoins positifs sur le germe *R equi*.

Tableau 30 : Illustre les résultats de l'action de l'extrait AE et du *PS* sur *R equi* par rapport à celle non traitée

Heures	Bacterienontraitée	Bacterie+extrait AE	Bacterie+ <i>PS</i>
	Moyennes	Moyennes	Moyennes
Resultat du DO 600nm avec Ecartype			
0H	0.29±0.00	0.12±0.00	0.12±0.00
1H	0.47±0.00	0.16±0.00	0.14±0.00
2H	0.58±0.01	0.18±0.00	0.15±0.00
3H	0.64±0.01	0.23±0.00	0.18±0.00
4H	0.75±0.04	0.33±0.00	0.20±0.00
5H	0.80±0.00	0.40±0.00	0.21±0.00
6H	0.89±0.00	0.44±0.03	0.29±0.00
7H	1.20±0.00	0.50±0.00	0.30±0.00
8H	1.20±0.00	0.51±0.00	0.31±0.00
Resultatdu DO 260nm avec Ecartype			
0H	0.01±0.00	0.03±0.00	0.03±0.00
1H	0.01±0.00	0.03±0.00	0.15±0.00
2H	0.02±0.00	0.08±0.00	0.19±0.00
3H	0.01±0.00	0.10±0.00	0.24±0.00
4H	0.01±0.00	0.12±0.00	0.29±0.00
5H	0.01±0.00	0.19±0.00	0.34±0.00
6H	0.01±0.00	0.23±0.00	0.45±0.00
7H	0.01±0.00	0.23±0.00	0.47±0.00
8H	0.01±0.00	0.32±0.00	0.50±0.00

I.2. Méthode de puits.

Dans ce test l'inhibition est mesurée par les germes (*E coli*, *S aureus*, *P aeruginosa*, *R equi*) sur l'extrait MeOH.

Resultats et discussion

Tableau 30 : Enregistrement des valeurs, des zones d'inhibition des souches bactériennes testées en mm par l'effet de l'extrait MeOH.

	<i>E coli</i>	<i>S aureus</i>	<i>P aeruginosa</i>	<i>R equi</i>
	Moyenne			
Extrait MeOH	13.16±0.20	19.47±0.49	11.26±0.80	16.96±0.41
Erythromycine	21.13±0.90	25.53±0.60	0±0.00	21.93±0.30
Chlorophenicol	32.86±0.41	29.53±0.55	21.43±0.49	33.96±0.40

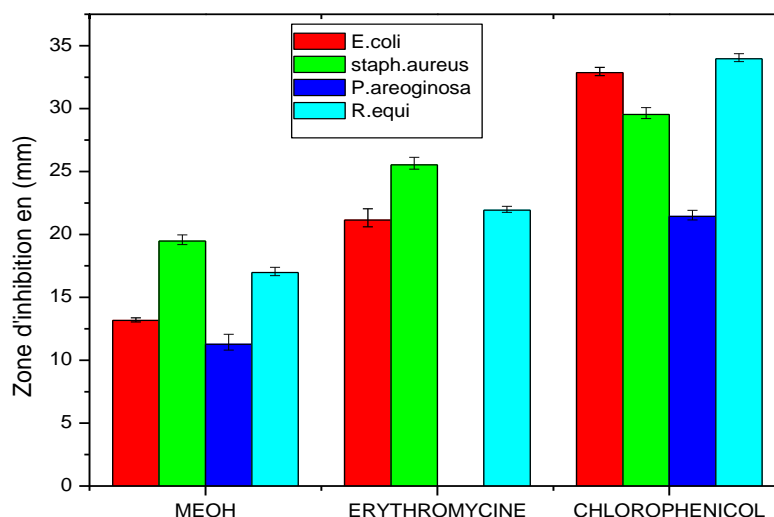


Figure 44 : Histogramme des zones d'inhibition des germes testés en mm par l'effet de l'extrait MeOH.

L'activité antimicrobienne de l'extrait MeOH des GLS est révélée par comparaison des antibiotiques de référence. Les extraits MeOH des GLS à une concentration de 25 mg/ml, contre quatre organismes pathogènes, ont été présentés dans le tableau 30. Les résultats d'inhibition ont indiqué que l'extrait MeOH était plus actif contre ces germes dont les zones d'inhibition sont les suivantes : contre *S aureus* est de 19.47±0.49 mm, contre *R equi* est de 16.96±0.41 mm, moins active contre *E coli* est de 13.16±0.20 et assez importante contre *P aeruginosa* est de 11.26±0.80. Les extraits de plantes ont été comparés à l'antibiotique standard Erythromycine et Chlorophénicol.

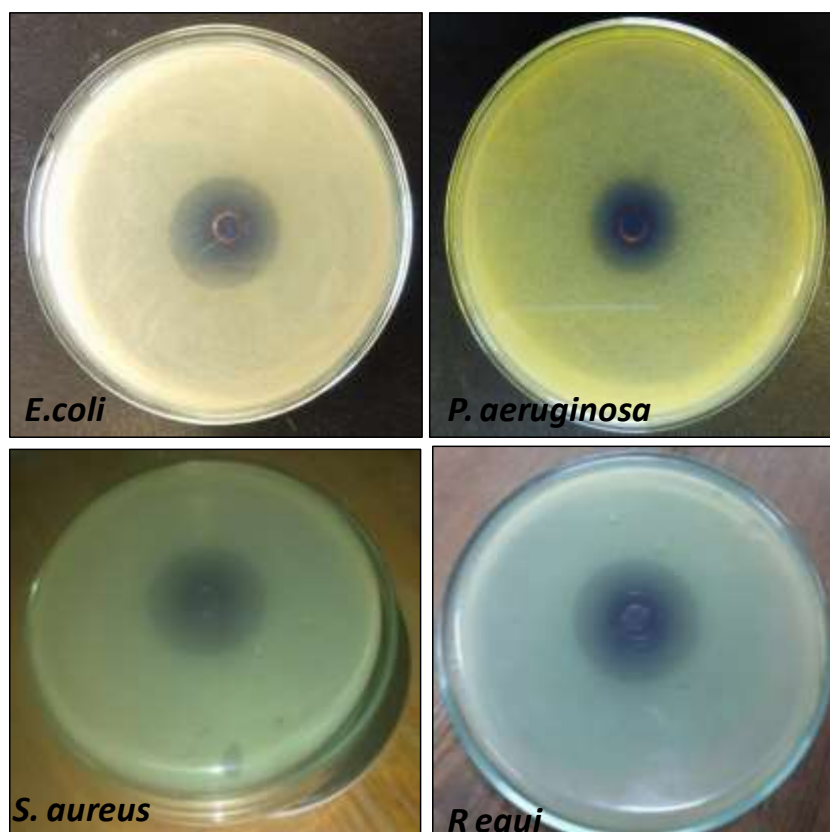


Figure 45 : Photos illustrant l'effet de l'extrait MeOH contre des germes pathogènes par la méthode de puits.

I.3. Détermination de CMI et CMB

Nous avons testé l'inhibition bacteriostatique bactério-acide par les germes suivants : (*E coli*, *S aureus*, *P aeruginosa*) sur les extraits MeOH, Ether, Petro, AE et HVP.

Tableau 31 : CMI des HVP des GLS contre trois souches bactériennes.

	Bactéries (mg/ml)		
	<i>E coli</i>	<i>S aureus</i>	<i>Paeruginosa</i>
MeOH	4	2	>8
Ether Petro	>8	1	>8
AE	>8	4	>8
HVP	2	0.5	8

Tableau 32 : CMB des HVP des GLS contre trois souches bactériennes

	Bactéries (mg/ml)		
	<i>E coli</i>	<i>S aureus</i>	<i>Paeruginosa</i>
MeOH	8	4	ND
Ether Petro	ND	1	ND
AE	ND	4	ND
HVP	2	1	8

Resultats et discussion

ND : non déterminé

L'activité antibactérienne de l'huile et des extraits des GLS présente une activité antibactérienne élevée contre les trois souches de bactéries testées, la CMI varie de 0.5 à 8 mg/ml. L'huile des GLS possède une activité antibactérienne importante dont la CMI varie entre de 0.5 à 8 mg/ml et la CMB varie entre 1 à 8 mg/ml, plus encore, cette huile présente une CMI et CMB de 2 mg/ml pour le germe *E coli* de même pour *S aureus* avec un CMI de 0.5 mg/ml et CMB de 1 mg/ml, tandis, que la CMI et CMB du *P aeruginosa* est de 0.5 à 8 mg/ml. AE possède une activité antibactérienne dont CMI varie entre de 4 à >8 mg/ml et CMB de 4 mg/ml, le *Saureusa* un CMI et CMB de 4 mg/ml et un CMI >8 mg/ml pour les germes *E coli* et *P aeruginosa*. Ether Petro a une activité antibactérienne dont CMI varie de 1 à >8 mg/ml et CMB de 1 mg/ml, on enregistre une CMI et CMB de 1 mg/ml pour le germe *S aureus* avec une CMI varie entre de 1 à >8 mg/ml. MeOH possède une activité dont CMI varie entre de 2 à >8 mg/mL et CMB est 4 mg/mL, enregistré pour la bactérie *S aureus*, CMB est 8 mg/mL pour *E coli*.

En conclusion les tableaux 32 et 33 montrent que l'huile obtenu par presse à froid présente une meilleure inhibition bactériostatique et bactéricide.

Tableau 33 : Enregistrement de l'action des souches bactériennes testées par la méthode de dilution sur gel de différente dilution par l'effet de l'extrait MeOH et de HVP des GLS.

	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	T
<i>B subtilis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>E coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>S aureus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>M luteus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+
HVP	+	+	+	+	+	+	+	+

T : Témoin ;

(-) : Absence de croissance bactérienne

(+) : Présence de croissance bactérienne

Notre recherche biologique a été suivie par méthode, série de dilution en utilisant l'extrait MeOH et HVP. Les résultats sont illustrés dans le tableau, à la dilution 1/100 ; on enregistre une activité bactérienne par inhibition de croissance des germes contre les bactéries à gram positif et à gram négatif, par contre la croissance bactérienne se maintient à cette dilution pour l'effet de l'huile.

II. Activité antifongique par la méthode de dilution

Resultats et discussion

Nous avons testé nos échantillons vis à vis des germes pathogènes à différentes dilutions.

Tableau 34 : Action l'extrait MeOH et de HVP contre des germes fongiques à différentes dilutions.

	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	T
<i>P placenta</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C puteana</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C versicolor</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>G trabeum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P expansu</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P digitatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A niger</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) : Présence de croissance bactérienne

Les résultats enregistrés sur le tableau 35 ne montrent aucune inhibition de nos échantillons sur les germes fongiques à la dilution minimale de 1/100.

T : Témoin ;

D'après nos études et les résultats ultérieurs, on pense plus difficile de comparer nos données avec d'autres résultats pour plusieurs raisons, notamment les méthodes doses utilisées, les souches inoculées et aussi l'environnement de travail, mais on peut déduire que nos graines ont un pouvoir antibactérien et antifongique vis-à-vis des germes pathogènes, via des principes antibactériens incluant des alcaloïdes, des saponosides et d'autres composants qui ont un effet antibactérien ; ceci est bien documenté dans la littérature [248].

D'autre part, et sur la base de ces résultats on peut suggérer qu'il y a une bonne corrélation entre l'activité antibactérienne des extraits GLS et leurs teneurs en composés phénoliques et notamment en flavonoïdes. Ahmed et Aqil, 2007, ont rapporté que la présence d'un ou plusieurs groupes de composés phyto-chimiques comme les flavonoïdes, les tanins, les glycosides, les phénols, les saponines, etc. sont responsables de l'activité antibactérienne des extraits, seule ou en combinaison [249]. Ainsi, Shan et ses collaborateurs 2007, ont indiqué que les composés phénoliques contribuent de manière significative à l'activité antibactérienne des extraits [250]. Akrayi et Tawfeeq, 2012, ont mentionné que les résultats négatifs ou la faible activité des extraits n'indiquent pas que les constituants bioactifs sont absents ou que la plante est inactive. Ils ont expliqué cela par l'insuffisance de la dose utilisée et que l'activité anti-germe peut être obtenue avec des doses plus élevées.

Resultats et discussion

Nos résultats restent négatifs à la dilution 1/100 au plus ; de ce fait nos recherches se poursuivent pour une meilleure méthode antifongique ou d'augmenter la dose utilisée.

Les résultats de l'essai de diffusion sur gel indiquent que HV et tous les extraits ont un effet positif sur le germe *R equi* à différents degrés d'inhibition de la croissance surtout pour les extraits AE et MeOH, même on a pu démontrer qu'il induit un effet bactéricide sur *R equi*. Plus encore, la méthode des puits confirme le meilleur résultat obtenu par rapport aux autres méthodes.

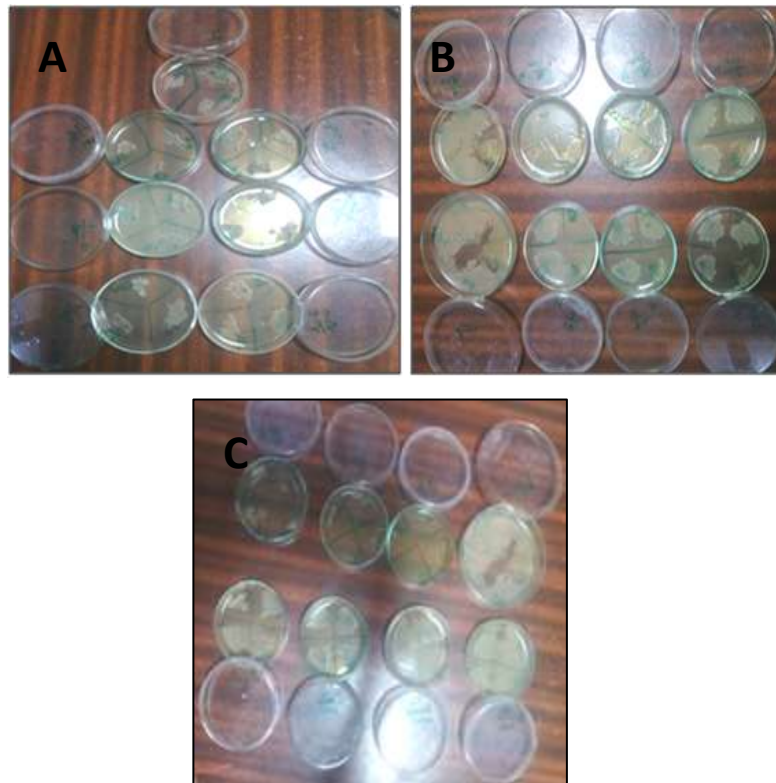


Figure 46 : Photos illustrant l'effet de l'extrait MeOH et de HVP sur des germes pathogènes à différentes dilutions.

III. Conclusion.

Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence la valorisation d'huiles *GLS*, de point de vue production, en vue de leurs utilisations notamment pour la lutte contre les infections microbiennes. Ceci indique que ces plantes peuvent être utilisées pour le développement de composés alternatifs à traiter les infections causées par les agents pathogènes étudiés. Ceci permet d'orienter les futures recherches vers la découverte de nouveaux composés antimicrobiens plus efficaces.

PARTIE III : Résultats sur l'activité chimique

Détermination de l'activité antioxydante et calcule statistique

I. Pouvoir anti oxydant.

Nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits des *GLS* en utilisant trois méthodes différentes : le piégeage du radical libre DPPH[•], les cations radicaux ABTS^{•+} et la réduction du fer FRAP.

Test DPPH.

La teneur de la réduction par le DPPH est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence de l'extrait MeOH ou EtOH des *GLS*.

Test ABTS.

L'extrait MeOH ou EtOH des *GLS* de la plante est mis en contact avec les radicaux libres d'ABTS et l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre à 734 nm.

Test FRAP.

Les extraits MeOH ou EtOH des *GLS* provoquent la réduction du fer Fe³⁺ complexe ferricyanide en fer (II) ceci se traduit par un changement de couleur qui passe de la couleur jaune au bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm.

Tableau 35 : Capacités oxydatives de différentes méthodes des stations étudiées

Regions	DPPH		FRAP		ABTS	
	Teneurs en extrait en ppm					
	MeOH	EtOH	MeOH	EtOH	MeOH	EtOH
TF	119.32	134.74	777.00	813.00	187.86	211.35
HZ	143.38	153.85	898.00	947.00	279.00	296.55
BA	162.30	177.40	980.00	1041.00	318.76	339.15
RM	188.05	196.90	1105.00	1237.00	345.09	456.88

I.2. Test DPPH.

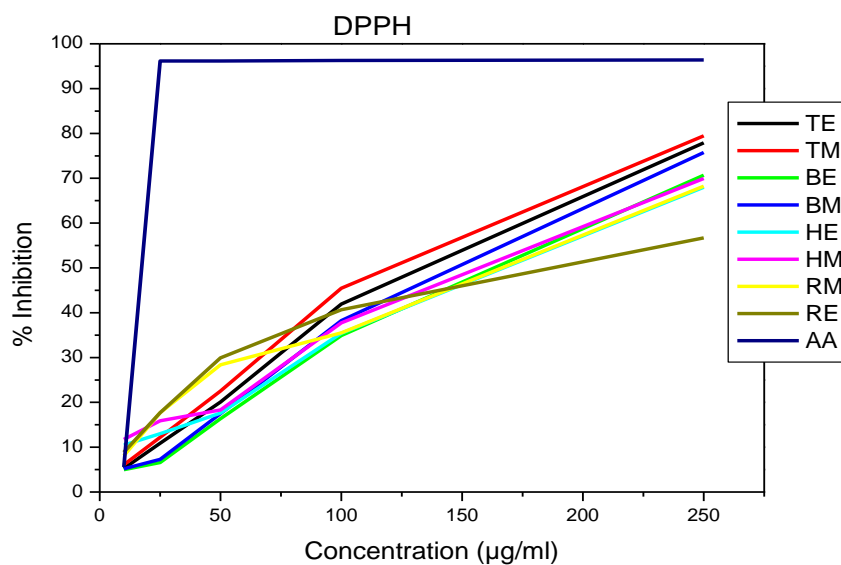


Figure 47 : Activités oxydatives DPPH des extraits MeOH et EtOH en moyenne des stations étudiées

I.2. Test ABTS.

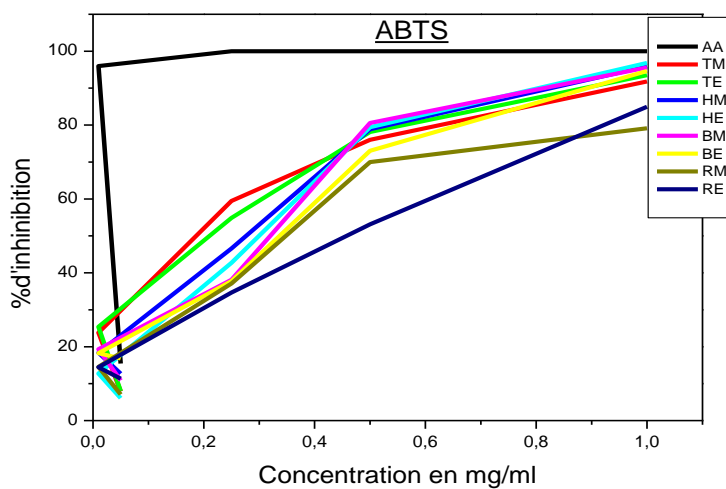


Figure 48 : Résultats de l'activité antioxydante ABTS des extraits MeOH et EtOH en moyenne des teneurs des composés de diverses stations étudiées.

I.3. Test FRAP.

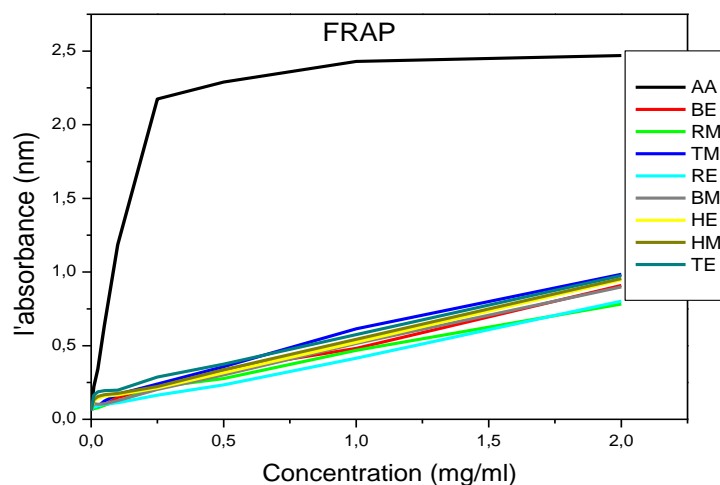


Figure 49 : Activités oxydatives FRAP des extraits MeOH et EtOH en moyenne des stations étudiées.

II. Discussion et analyses statistiques.

Dans cette étude, les tests couramment acceptés DPPH, FRAP et ABTS ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante d'extraits de la plante.

Les résultats de ces tests sont présentés dans le tableau 36 qui représentent une moyenne de trois mesures indépendantes.

L'activité antioxydante des différents extraits des quatre régions *LS* ont été déterminées en calculant la IC_{50} de l'activité de piégeage de DPPH et ABTS. En parallèle, dans le test FRAP, l'activité antioxydante a été déterminée en calculant l' CE_{50} de la capacité FRAP pour chaque extrait.

Une faible valeur de l' IC_{50} ou de l' CE_{50} , cela signifie que l'activité de l'antioxydant est élevée.

Les valeurs DPPH IC_{50} , ABTS IC_{50} et FRAP CE_{50} ont été comparés à la valeur IC_{50} standard de l'acide ascorbique.

Les valeurs IC_{50} pour les activités de piégeage DPPH et ABTS des extraits des quatre régions de la *LS* se trouvent dans le domaine de 119 à 196.9 et 187.8 à 456.8 $\mu\text{g/mL}$, respectivement, tandis que le FRAP EC_{50} variait de 777.0 à 1237.0 $\mu\text{g/mL}$.

La stabilité des radicaux libres de DPPH est observée par OD à 516 nm. La réduction de l'absorbance de DPPH est liée à le potentiel antioxydant d'un échantillon. La concentration d'un échantillon ou étalon pouvant inhiber 50% du radical DPPH, l'activité est appelée IC_{50} de

Resultats et discussion

l'activité de piégeage de DPPH. Pour le contrôle positif acide ascorbique, les résultats ont montré que les deux extraits (MeOH et EtOH) des quatre régions ont une très capacité antioxydante. Nous avons également observé que l'extrait de MeOH avait une activité antioxydante plus puissante que l'extrait d'EtOH, mais toutes ces valeurs étaient très élevées par rapport à la norme. Une corrélation positive a été observée entre le DPPH et le dosage des composés phénoliques pour les deux extraits de MeOH et EtOH, et les quatre emplacements avaient un degré d'acceptation ($P < 0.05$) voir le tableau 29.

Ces valeurs restent comparables aux résultats obtenus dans une étude précédente (IC_{50} 0.17 mg/ml) [251].

la présence des composés phénoliques des GLS qui ont un rôle principal comme réducteurs des radicaux libres selon Economon et al [252].

La corrélation indique que la richesse en composés phénoliques améliore l'activité antioxydante de l'extrait végétal.

Le radical cation ABTS a été produit sous forme stable en utilisant du persulfate de potassium. Après avoir obtenu l'absorbance stable, antioxydant de l'extrait végétal a été ajouté au milieu réactionnel, et le pouvoir antioxydant a été mesuré en étudiant la décoloration. Il est à noter que le TEAC des données pour tous les échantillons des extraits végétales obtenues par le test ABTS étaient supérieurs à ceux révélés par le test DPPH.

Comme le montre le tableau, les valeurs de IC_{50} pour ABTS^{*}, le radical de l'activité de piégeage variait de 187.8 à 456.8 $\mu\text{g/mL}$, en comparant ces valeurs à celles de la norme, il est évident que les échantillons testés sont efficaces dans leur capacité à éliminer le cation radical ABTS^{*} en moyenne de concentration.

Les extraits de LS des quatre régions ont montré un niveau élevé de signification ($P < 0.05$) entre le radical ABTS^{*} et TPC. Une corrélation positive et significative entre TPC et l'activité antioxydante de l'ABTS renforce les résultats observés dans la méthode de piégeage DPPH utilisée dans cette étude. La recherche peut être cohérente avec l'hypothèse qu'une l'augmentation des composés phénoliques totaux augmentera l'activité antioxydante des extraits [40].

Le test FRAP mesure le potentiel de réduction d'un antioxydant qui réagit avec une tripyridyltriazine ferrique complexe (Fe^{3+} -TPTZ) pour produire une tripyridyltriazine ferreuse colorée (Fe^{2+} -TPTZ). La rupture de la chaîne des radicaux libres se produit par la donation d'un atome d'hydrogène. À un pH bas d'environ 3.6 le complexe Fe^{3+} -TPTZ se réduit au bleu Fe^{2+} -TPTZ, qui a une valeur d'absorbance à 593 nm.

Resultats et discussion

Les résultats présentés dans le tableau ont montré que le MeOH l'extrait de la région TF avait une activité puissante, EC_{50} à 777 $\mu\text{g/mL}$ et acide ascorbique standard, CE_{50} à 44 $\mu\text{g/mL}$. Par conséquent, cette étude a montré que des taux élevés de phénol des composés acides trouvés dans les *GLS* sont les principaux contributeurs à l'activité antioxydante.

En général, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence des molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols (Ferreira et al, 2007), ce qui explique le potentiel réducteur de l'extrait *LS* riche en polyphénols [253]

La corrélation significative entre le test FRAP et composés phénoliques totaux ($r^2= 0.991$ et $P<0.05$) prouve que l'activité antioxydante élevée pourrait être liée à la haute quantité de polyphénols dans les extraits, ce qui renforce les résultats observés dans les méthodes DPPH et ABTS utilisées dans cette étude.

III. Conclusion.

Nous avons conclu que les régions d'où proviennent les *GLS* ont une influence sur la teneur en composés bioactifs et la capacité antioxydante. Les graines de la région du Tafraout étaient plus prometteuses en ce qui concerne les composés flavoniques et la capacité antioxydante.

La corrélation positive induite parmi les méthodes utilisées (ABTS, DPPH et FRAP) suggère que pour une matrice alimentaire riche en lipides, les tests peuvent être comparables en ce qui concerne la capacité antioxydante.

PARTIE IV : Résultats sur l'anti-corrosion

Détermination des paramètres électrochimiques

I. Etude anticorrosive de l’HV (Région Tafraout).

Les graines de l’espèce *LS* ont été récoltées en juin 2014 à Tafraout, puis séchées au soleil et conservées à 4°C. Les propriétés anticorrosives de nos inhibiteurs naturels (HV et extrait MeOH) des *GLS* vis-à-vis de la corrosion de l’acier C35 en milieu HCl 1.0 M, sont déterminées par l’électrochimie, afin d’évaluer l’efficacité d’inhibition et la connaissance des mécanismes mis en jeu lors de la corrosion en l’absence et en présence de l’inhibiteur naturel utilisé. Les graines de Cresson ont été broyées et l’extraction est effectuée par Soxhlet. Après l’élimination de l’hexane sous pression réduite l’huile est obtenue avec un rendement de 9.94±0.002% l’acier au carbone C35 utilisé a été mécaniquement frottée avec les papiers abrasifs de différentes taille pour pouvoir entamer son étude d’abord par gravimétrie ensuite par électrochimie.

I.1. Taux de corrosion par perte de masse et efficacité de l’inhibition

I.1.1. Effet de la concentration

La perte de masse est déterminée après 6 h d’immersion dans HCl 1.0 M à une température égale à 303 K. La lecture est réalisée avant et après addition de différentes concentrations de l’inhibiteur des *GLS*.

Nous avons mesuré cette perte de masse en calculant la vitesse de corrosion selon la formule (19 ; 20), Elle est donnée par la relation suivante :

V : est exprimé en $\text{mg.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$.

$$V = \frac{\Delta P}{S.t} \quad (19)$$

$$E(\%) = \frac{V - V_{inh}}{V} \times 100 \quad (20)$$

L’efficacité inhibitrice E de l’huile étudiée des *GLS* de la région TF est donnée par la vitesse de corrosion (V). Les valeurs de la vitesse de corrosion (V), de l’efficacité d’inhibition $E\%$, obtenues par la méthode de perte de masse à différentes concentrations en inhibiteurs à 303K, sont résumées dans le tableau 36.

Resultats et discussion

Le substrat utilisé est l'acier de carbone C35 dont les dimensions de hauteur, de largeur et de longueur sont respectivement 1.0 cm 0.3 cm 0.9 cm. immergé dans la solution HCl 1.0 M, sans et avec addition de différentes concentrations d'huile GLS. L'efficacité inhibitrice est déterminée après 6 h d'immersion, à une température de 30°C.

Tableau 36 : Vitesses de corrosion et les efficacités inhibitrices pour différentes concentrations de l'HV des GLS pour la corrosion de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M à 303 K

		$V_{corr}/(mg.cm^{-2}.h^{-1})$	$E_w\%$
1.0 M HCL	Blanc	0.1173	-
HV des (GLS) g/L	0.25	0.0432	63
	0.50	0.0308	73
	1.00	0.0185	84
	1.50	0.0129	89
	2.00	0.0086	93

Pour l'inhibiteur testé, nous remarquons que la vitesse de corrosion (V) diminue avec l'augmentation de la concentration en inhibiteur tandis que l'efficacité inhibitrice augmente et atteint des valeurs maximales de l'ordre de 93%. Ceci peut être expliqué par l'adsorption des molécules actives contenues dans l'huile (noyaux aromatiques, hétéroatomes) à l'interface, acier C35/milieu HCl, ce qui conduit à une diminution de la surface offerte à la corrosion. Dans les milieux acides, les constituants de l'huile ou de l'extrait existent soit sous forme de molécules neutres ou sous forme de molécules protonées, ces dernières peuvent s'adsorber à la surface de l'acier de plusieurs manières :

- ✓ Par des interactions électrostatiques entre les espèces protonées de l'inhibiteur et les ions chlorures déjà adsorbés à la surface (effet synergique).
- ✓ Par des interactions donneur-accepteur entre les électrons π des cycles aromatiques et les orbitales (d) vacantes d'atomes de surface du fer.
- ✓ Ou par des interactions entre les paires d'électrons non liantes des hétéroatomes et les orbitales (d) vides des atomes de surface du fer.

I.1.2. Effet de la température.

I.1.2.1. Effet de la température sur la vitesse de la corrosion de l'acier au carbone C35.

Resultats et discussion

Le tableau 37, présente les valeurs de la vitesse de corrosion de l'acier C35 dans le milieu HCl 1.0 M en absence et en présence de différentes concentrations de l'HV des GLS.

Tableau 37 : Variation de la vitesse de corrosion de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M en l'absence et en présence d'inhibiteur.

		V (mg cm ² h ⁻¹)					
		HCl 1.0 M	Concentration (l/g)				
			0.25	0.50	1.00	1.50	2.00
Huile des GLS	T (K)						
	303	0.1173	0.0432	0.0308	0.0185	0.0129	0.0086
	313	0.1245	0.0498	0.0375	0.0274	0.0249	0.0124
	323	0.1523	0.0639	0.0502	0.0456	0.0350	0.0243
	333	1.2042	0.6623	0.6021	0.4455	0.3853	0.2649

A partir des résultats du tableau 38, on peut noter que la vitesse de corrosion de l'acier C35 diminue avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur de l'huile végétale des GLS dans l'intervalle dont la température étudiée (303 à 333 K). Pour chaque concentration de l'inhibiteur la vitesse de corrosion augmente avec l'augmentation de la température. Ainsi, en absence d'inhibiteur, l'augmentation de la vitesse de corrosion est aussi très remarquable.

I.1.2.2. Effet de la température sur l'efficacité d'inhibition de l'acier au carbone C35.

Nous avons mesuré les paramètres électrochimiques du matériau d'acier au carbone d'une surface de 0.27 cm² dans la solution de HCl 1.0 M contenant différentes concentrations de l'inhibiteur de l'HV ou extrait MeOH des GLS à 303 K ou bien de fixer la concentration efficace et faire varier la température. Pour ce faire, nous avons effectué des données électrochimiques stationnaires en potentiodynamique réalisées dans une plage de températures de 303-333 K. Nous avons ensuite enregistré les courbes de polarisation de l'acier au carbone C35 avec et sans inhibiteur à 2 g/L. Le tableau 38, regroupe les valeurs de l'efficacité d'inhibition de la corrosion de l'acier au carbone C35 dans HCl/1.0 M à différentes températures. Les résultats obtenus révèlent que l'efficacité d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration en inhibiteur.

Resultats et discussion

Tableau 38 : Variation de l'efficacité inhibitrice de l'acier C35 dans HCl 1.0 M à différentes T° sans et avec addition de différentes concentrations en HV.

C_{inh} (g/L) L'HV des (GLS)	Efficacité inhibitrice (%)			
	303 K	313 K	323 K	333 K
0.25	63	60	58	45
0.50	73	70	67	50
1.00	84	78	70	63
1.50	89	80	77	68
2.00	93	90	84	78

Pour toutes les concentrations étudiées, l'efficacité diminue lorsqu'on augmente la température. Ceci peut être expliqué par la diminution de l'intensité du processus d'adsorption à des températures élevées.

Les résultats du tableau 38, montrent que l'HV des GLS inhibe la corrosion de carbone d'acier C35 dans toutes les concentrations utilisées dans les essais étudiés. On peut observer à partir de ce tableau 38 que la vitesse de corrosion de l'acier au carbone diminue, tandis que l'efficacité de la protection augmente en fonction de l'augmentation de concentration de l'huile végétale des GLS dans les solutions de HCl 1.0 M. L'efficacité E% est maximale à 93% pour une concentration de 2 g/L et une augmentation supplémentaire de la concentration n'a pas entraîné de changement dans la performance de l'inhibiteur, ce comportement peut être attribué à l'augmentation de la surface couverte due à l'adsorption de composés naturels sur la surface de l'acier au carbone [254]. Ceci peut être expliqué par l'adsorption des molécules actives contenues dans notre huile à l'interface acier C35/milieu HCl, ce qui conduit à une diminution de la surface offerte à la corrosion. Dans les milieux acides, les constituants de l'huile ou de l'extrait existent soit sous forme de molécules neutres ou sous forme de molécules protonées ; ces dernières peuvent s'adsorber à la surface de l'acier de plusieurs manières. En effet, les molécules formées d'un groupe hydrophile polaire attaché à un groupe hydrophobe non polaire. En solution aqueuse l'action inhibitrice des molécules peut être due à une adsorption physique (électrostatique) ou chimisorption sur la surface métallique en fonction de la charge de la surface solide et du changement d'énergie du transfert d'une chaîne hydrocarbonée de l'eau à la surface solide. L'adsorption de ces molécules modifie nettement la propriété de résistance à la corrosion du substrat et pour cette raison, les études sur la relation entre l'adsorption et l'inhibition de la corrosion sont d'une importance considérable [255].

D'après les résultats du tableau 38 ci-dessus, on déduit nettement que l'inhibiteur utilisé, renferme des bons constituants présentant de propriétés inhibitrices de la corrosion vis-à-vis de

l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M. Des résultats analogues, rapportés par plusieurs auteurs, concernant la variation de l'efficacité en fonction de la concentration et de la température, obtenues lors d'une étude gravimétrique [256]. Nos résultats gravimétriques n'expliquent pas les mécanismes réactionnels mis en jeu lors de la corrosion. Par conséquent, nous faisons appel à d'autres techniques électrochimiques plus complets pour montrer le processus électrochimique mise en jeu lors de la corrosion.

I.2. Etude électrochimique.

Avant d'étudier le comportement de l'acier C35 plongé dans un milieu inhibé, il est essentiel de bien connaître le comportement électrochimique de l'interface métal/milieu acide. Des essais électrochimiques ont été donc effectués en absence et en présence d'inhibiteur à différentes concentrations. Dans la méthode potentiostatique, le potentiel appliqué varie de façon continue de -800 à 0 mV. Le potentiel de l'électrode de travail est stabilisé pendant 30 min avant de procéder aux mesures des courbes $I=f(E)$.

Le processus de l'interface métal-solution est déterminé par la cinétique électrochimique, de transport de matière, adsorption des espèces sur l'électrode, les courbes de polarisation sont exploités pour mesurer la vitesse de corrosion et d'autres paramètres à savoir: le courant de corrosion I_{corr} , les pentes de Tafel, la résistance de polarisation R_p et La capacité de la double couche C_{dl} et la résistance de transfert de charge R_t ; de même l'adsorption à l'électrode permet de tracer du type Arrhenius a été utilisé pour le calcul des valeurs d'energied'activation.

I.2.1. Effet de la concentration.

Les représentations de Nyquist ont été faites à partir de ces expériences par un transfert des données dans la mémoire d'ordinateur, ce qui permet ensuite de tracer les diagrammes d'impédance. Les segments linéaires de Tafel des courbes anodiques et cathodiques ont été extrapolés au potentiel de corrosion pour obtenir des densités de courant de corrosion I_{corr} , b_a et b_c sont les pentes de Tafel anodiques et cathodiques. L'efficacité d'inhibition a été évaluée à partir des valeurs I_{corr} mesurées en utilisant la relation (voir formule 16)

$$E\% = \frac{1 - I'_{corr}}{I_{corr}} \times 100 \quad (16)$$

Resultats et discussion

Les courbes de polarisation cathodique et anodique de l'acier au carbone de l'acier C35 dans 1.0 M HCl en absence et en présence de l'HV des GLS des différentes concentrations à 303 K (voir figure 58). Les valeurs des paramètres électrochimiques associés sont données dans le tableau 40. Celle-ci est obtenue après 1/2 heure d'immersion à une température de 303 K.

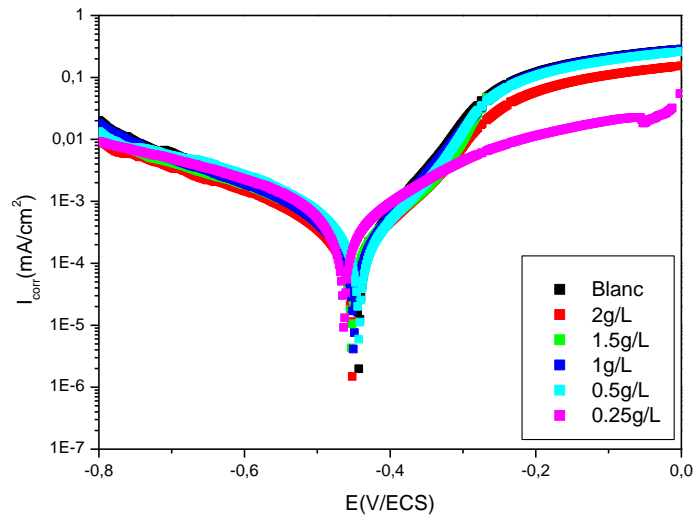


Figure 50 : Courbes de polarisation cathodique et anodique de l'acier au carbone dans 1.0 M HCl en présence de différentes concentrations de l'HV des GLS à 303 K.

L'étude de la figure 50 révèle que l'addition de l'huile végétale des GLS à une solution de HCl 1.0 M réduit la dissolution anodique de l'acier et retarde également la réaction d'évolution de l'hydrogène cathodique. Ces résultats indiquent que cet inhibiteur organique présente des effets d'inhibition cathodique et anodique. Par conséquent, l'HV des GLS peut être classé comme un inhibiteur d'effet relativement mixte dans 1.0 M HCl.

Tableau 39 : Paramètres électrochimiques de l'acier au carbone à diverses concentrations de l'HV des GLS dans 1.0 M HCl et efficacité d'inhibition correspondante.

Inhibiteur(g/L)	$-E_{corr}$ (mV/ECS)	I_{corr} ($\mu A/cm^2$)	$-b_c$ (mV/dec)	b_a (mV/dec)	E_I (%)
Blanc	447.6	779	93.30	85.0	—
0.25	466.5	239	93.60	122.5	69
0.50	427.4	203	137.30	76.0	74
1.00	434.7	184	16.80	72.1	76
1.50	453.1	142	87.90	95.9	82
2.00	454.3	107	89.20	85.9	86

Le tableau 39, regroupe les valeurs des paramètres électrochimiques déterminés par extrapolation des courbes de polarisation précédemment obtenues, la densité du courant de corrosion I_{corr} , le potentiel de corrosion E_{corr} , la pente de Tafel cathodique b_c , la pente de Tafel anodique b_a ainsi que l'efficacité inhibitrice de corrosion $E\%$. À partir des résultats du tableau 39, on peut remarquer que les valeurs des densités de courant de corrosion I_{corr} de l'acier au carbone C35 dans les solutions contenant l'inhibiteur étaient inférieures à celles de la solution à blanc. À toutes les concentrations d'inhibiteur les valeurs d' I_{corr} sont réduites. Le potentiel de corrosion $E_{0,0}$ de l'acier au carbone C35 est de -447.6 mV dans le milieu témoin, cette valeur est de -466.5 mV pour l'HV des GLS à une concentration de 0.25 g/L. Les données affichées montrent que l'augmentation de la concentration de l'HV des GLS diminue l'intensité de courant I_{corr} , atteignant 86% à 2 g/L. Les valeurs de b_a et b_c sont légèrement modifiées, indiquant que le mécanisme d'inhibition se produit par simple blocage des sites cathodiques et anodiques actifs de la surface métallique [257]. Les courbes de polarisations ci-dessus, figure 52 montrent que les réactions anodiques et cathodiques sont affectées par addition de l'inhibiteur. En général, les réactions anodiques et cathodiques d'un acier au carbone dans une solution acide sont caractérisées par l'oxydation de fer et par la réduction de l'hydrogène dissout dans le milieu. Dans le domaine cathodique, l'addition des différentes concentrations de l'huile végétale des GLS induit une diminution importante du courant partiel cathodique, correspondant à la réduction du proton. En effet, les courbes cathodiques se présentent sous forme de droites de Tafel, indiquant que la réaction de réduction de l'hydrogène à la surface de l'acier au carbone C35 se fait selon un mécanisme d'activation pure.

Il a été rapporté dans la littérature qu'un déplacement dans E_{corr} supérieure à 85 mV par rapport à E_{corr} du blanc implique que l'inhibiteur peut agir comme un type anodique ou cathodique, tandis qu'un déplacement dans E_{corr} inférieure à 85 mV implique que l'inhibiteur est du type mixte [258]. Dans la présente étude, l'évolution des valeurs d' E_{corr} pour toutes les différentes concentrations de l'huile végétale des GLS étudiées est dans la gamme de 69-86 mV ; l'huile agit comme un inhibiteur du type mixte, avec prédominance cathodique. Pour une concentration optimale de 2 g/L les différentes concentrations de l'HV des GLS est considérée comme étant le meilleur inhibiteur dont l'efficacité inhibitrice est maximale et atteint 86%. L'effet inhibiteur de l'huile étudiée peut être attribué à l'adsorption des molécules de ces huiles sur la surface de l'acier avant d'agir par simple blocage de ses sites actifs. Le même comportement a été observé dans plusieurs travaux de recherche concernant le même milieu, comme le cas de l'huile de *Silybum marianum* [259], l'extrait aqueux des feuilles d'Eucalyptus et l'huile d'argan [260].

I.2.2. Effet de la température.

La température est l'un des facteurs susceptibles de modifier le comportement d'un matériau dans un milieu corrosif. Elle peut modifier l'interaction métal inhibiteur dans un milieu donné. En général, lorsque la température augmente, des changements sur l'action des inhibiteurs apparaissent. Les complexes formés peuvent se dissoudre plus facilement lorsque la température augmente. L'influence de la température sur l'efficacité des inhibiteurs naturels, notamment en milieu acide a fait l'objet de plusieurs articles [261]. Nous avons étudié l'effet de l'augmentation de la température sur l'efficacité inhibitrice de l'huile et extrait testé, pour déterminer quel type d'adsorption de l'inhibiteur à la surface du métal (chimisorption ou physisorption), et nous a permis aussi de calculer l'énergie d'activation E_a , l'enthalpie d'activation ΔH_a et l'entropie d'activation ΔS_a du processus de corrosion.

Mesure de la température par potentiométrie.

L'évaluation de la température sur l'efficacité inhibitrice de l'huile végétale des GLS a également été étudiée par potentiométrie. Les deux figures 60 et 61, représentent l'effet de la température sur les courbes de polarisation cathodiques et anodiques de l'acier C35 en milieu HCl 1.0M, en absence et en présence de 2 g/L de l'inhibiteur. Afin d'examiner l'influence de ce paramètre sur l'efficacité inhibitrice des inhibiteurs, nous avons effectué des mesures électrochimiques stationnaires en mode potentiodynamique dans un intervalle de température comprise entre 303 et 333 K.

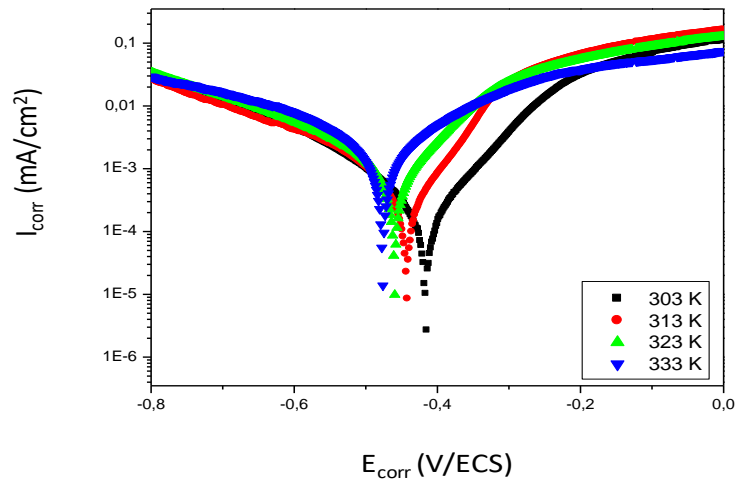


Figure 51 : Courbes de polarisation pour l'acier C35 dans la solution HCl 1.0 M à différentes T° .

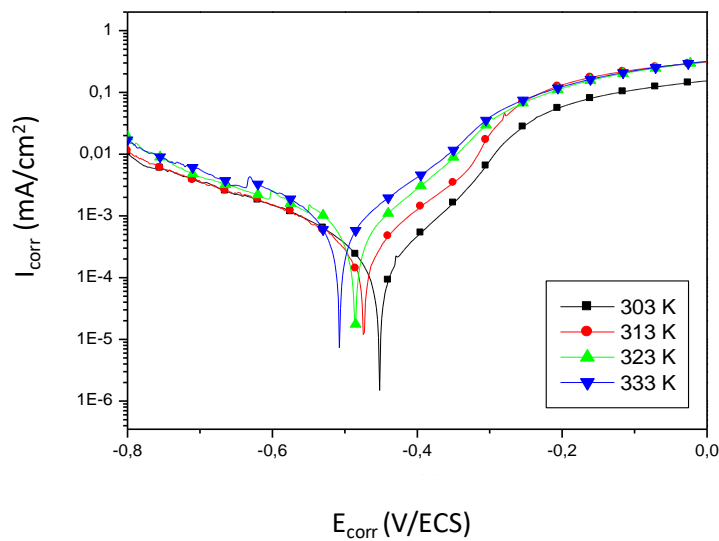


Figure 52 : Courbes de polarisation potentiométrique de l'acier au C35 dans du HCl 1.0 M en présence de 2 g/L de l'HV des GLS à différentes T° .

Selon les résultats des figures 51, 52 et le tableau 40, nous remarquons ce qui suit :

Les densités de courant augmentent avec l'augmentation de la température de 303 à 333 K, les courbes dans la partie cathodique sont parallèles, indiquant que la réduction des ions H^+ à la surface de l'acier se fait selon un mécanisme d'activation pure dans tout le domaine de température étudié. Le potentiel de corrosion E_{corr} de l'acier C35 est légèrement modifié par l'accroissement de la température de 303 à 333 K, dans HCl 1.0 M sans et avec inhibiteur. De façon générale, l'évolution des courants de corrosion dans la solution HCl 1.0 M (blanc) présente

Resultats et discussion

une croissance rapide, confirmant une dissolution métallique croissante avec l'augmentation de la température. Nous remarquons que l'augmentation de la température provoque une diminution d'efficacité inhibitrice dans tout le domaine de température étudié. Ce comportement a été expliqué par Ammar et al, comme le résultat des interactions spécifiques possibles entre la surface de fer et l'inhibiteur. L'augmentation de la température induit à une désorption de la molécule inhibitrice [262].

Tableau 40 : Paramètres de polarisation pour l'acier au C35 dans 1.0 M HCl sans et avec GLS à différentes T°.

Milieu	T(K)	-E _{corr} (mV/ECS)	I _{corr} (μA/cm ²)	-b _c (mV/dec)	b _a (mV/dec)	E _I (%)
Blanc	303	447	778	93.3	85.0	—
	313	444	1100	125.5	115.3	
	323	451	1500	111.1	111.5	
	333	443	2118	170.3	161.8	
Huile des (GLS) 2 g/L	303	450	107	137.8	87.8	86
	313	472	215	160.0	99.4	80
	323	484	320	104.4	91.6	76
	333	508	600	170.4	119.5	71

I.3. Calcule thermodynamique.

Dans cette étude, la dépendance de type d'Arrhenius observée entre le courant de corrosion et la température, nous a permis de calculer la valeur de l'énergie d'activation du processus de corrosion E_a , en absence et en présence des inhibiteurs, selon l'équation d'Arrhenius [263]

$$I_{corr} = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (21)$$

E_a : l'énergie d'activation (kJ.mol⁻¹)

A=facteur pré-exponentiel d'Arrhenius,

I_{corr} : densité de courant de corrosion (A.cm⁻²),

R : la constante des gaz parfaits (J.mol⁻¹. K⁻¹)

T : température absolue (K).

La figure 60, illustre la variation du logarithme de la densité de courant de corrosion [$\ln(I_{corr})$] en fonction de l'inverse de la température absolue ($10^3/T$). Les fractions d'Arrhenius [$\ln I_{corr} = f(10^3/T)$] sont des droites linéaires pour les différentes concentrations sans et avec inhibiteur et

Resultats et discussion

pour l'inhibiteur étudié (coefficient de corrélation varie de $R^2=0.987$ à 0.999). Ces résultats, nous ont permis de calculer l'énergie d'activation pour l'inhibiteur selon l'équation suivante :

$$I_{CORR} = \frac{RT}{Nh} \exp\left[\frac{\Delta S_a}{R}\right] \exp\left[\frac{-\Delta H_a}{RT}\right] \quad (22)$$

ΔH_a : est l'enthalpie d'activation,

N : est le nombre d'Avogadro,

ΔS_a : est l'entropie d'Activation,

Les données du tableau 42, montrent que l'énergie d'activation apparente augmente par addition d'inhibiteurs par rapport à la solution à blanc. Ceci suggère que les molécules étudiées créent une barrière à la charge et au transfert de masse. La valeur d' E_a dans la solution inhibée peut également être corrélée avec l'épaisseur accrue de la double couche, qui améliore la valeur E_a de la réaction de corrosion [264].

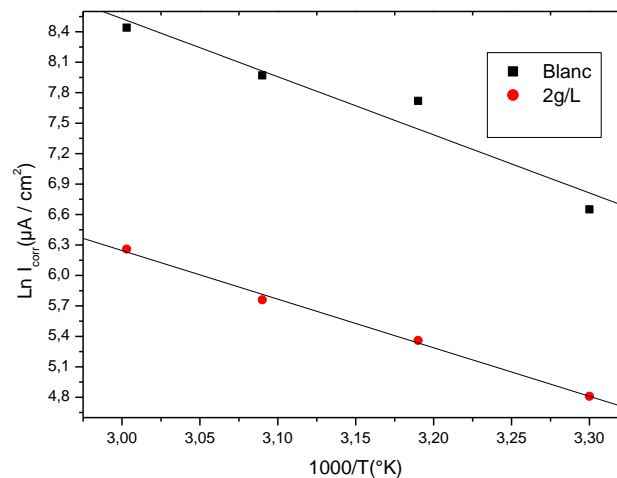


Figure 53 : Tracés d'Arrhenius pour l'acier au C35 dans 1.0 M HCl et 1.0 M HCl+2 g/L de l'HV des GLS.

Les droites obtenues ont une pente égale à $(-\Delta H_a/R)$ et une ordonnée à l'origine égale à $[\ln(R/Nh) + (\Delta S_a/R)]$. À partir de ces droites, nous pouvons calculer les valeurs de ΔH_a et ΔS_a . (Voir tableau42). La comparaison des énergies d'activation obtenues en l'absence ou en présence de l'inhibiteur, nous pouvons prévoir la dépendance du pouvoir protecteur de l'inhibiteur vis-à-vis de la température.

Resultats et discussion

Selon les résultats du tableau 41, il est bien clair que les énergies d'activation en présence de l'inhibiteur sont supérieures à celles correspondantes à HCl 1.0 M seul. Cette augmentation de l'énergie d'activation peut être attribuée à la physisorption de l'inhibiteur étudié. Ces résultats sont en bon accord avec la littérature [265].

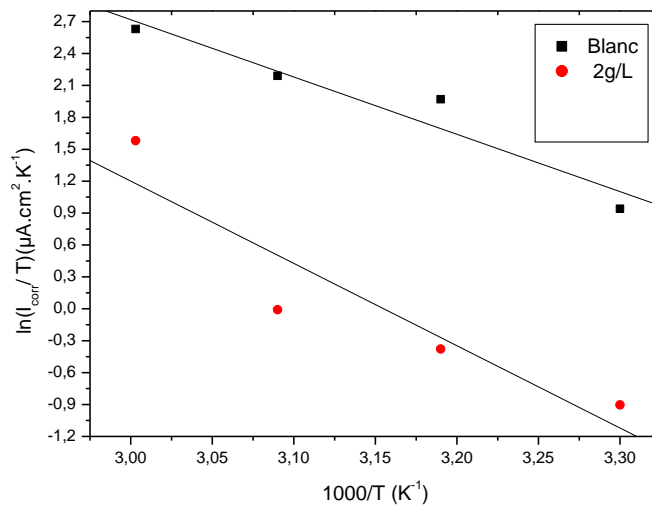


Figure 54 : Tracés d'état de transition pour l'acier au C35 dans du HCl 1.0 M et du HCl 1.0 M+2 g/L de l'HV des GLS.

Tableau 41 : Paramètres d'activation pour l'acier au carbone dans un milieu HCl 1.0 M sans et avec l'addition de l'inhibiteur à la concentration optimale.

Milieu	E_a (KJ/ masse moléculaire)	ΔH_a (KJ/ masse moléculaire)	$-\Delta S_a$ (J K ⁻¹ / masse moléculaire)
Blanc	27.79	25.15	106.74
Huile des GLS	46.74	44.10	60.44

Le signe positif de l'enthalpie ΔH_a reflète la nature endothermique du processus de dissolution de l'acier, ce qui signifie que la dissolution de l'acier est difficile. En comparant les valeurs de l'entropie d'activation ΔS_a listées dans le tableau 41, il est clair que ΔS_a augmente en présence des inhibiteurs étudiés par rapport à la solution d'acide libre. ΔS_a accrue de l'activation en présence d'inhibiteur indique que le désordre est augmenté en passant du réactif au complexe activé. Ceci s'explique par l'adsorption des molécules inhibitrices sur la surface métallique à partir de la solution acide qui peut être considérée comme une quasi-substitution entre les molécules inhibitrices dans la phase aqueuse et les molécules H₂O sur la surface de l'électrode. Dans une telle condition, l'adsorption des molécules inhibitrices est suivie par la désorption des molécules d'H₂O de la surface de l'électrode. Ainsi, l'augmentation de ΔS_a est attribuée à l'entropie du solvant H₂O. Les valeurs élevées et négatives des ΔS_a impliquent que le complexe

Resultats et discussion

activé à l'étape cinétique déterminante représente une association plutôt qu'une dissociation, signifiant qu'il y a diminution du désordre lors de la transformation des réactifs en complexe activé [264].

En conclusion, les données thermodynamiques trouvées prouvent que l'inhibiteur étudié s'adsorbe à la surface de l'acier par des liaisons faibles (physisorption).

I.4. Mesures par S.I.E

L'étude du comportement du substrat C35 vis-à-vis de la corrosion en milieu acide chlorhydrique 1.0 M et en présence de différentes concentrations de l'HV des GLS a été complétée par la technique de S.I.E. C'est une représentation de Nyquist qui permet de voir les différentes « boucles et droites » du diagramme mais masque souvent les résultats à haute fréquence, ce mode nous permet de déterminer les paramètres électrochimiques tels que la résistance de l'électrolyte R_s , la résistance de transfert de charge R_t et la capacité de double couche C_{dl} .

Les diagrammes de Nyquist sont obtenus après 1/2 heure d'immersion en circuit ouvert.

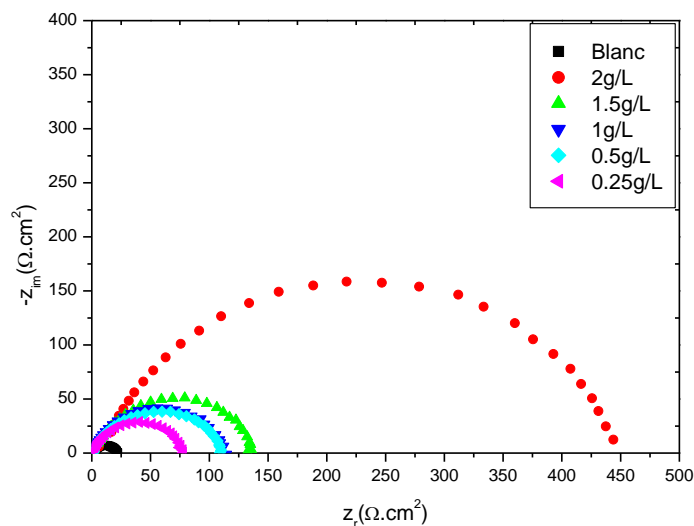


Figure 55 : Diagrammes de Nyquist pour l'électrode en acier avec et sans HV des GLS après 30 min d'immersion à 303 K.

L'interprétation des diagrammes de Nyquist, permet de déterminer les différents processus qui ont lieu à la surface de l'électrode. Les spectres d'impédance obtenus forment une seule boucle

Resultats et discussion

capacitive, ce qui signifie également que l'adsorption de l'inhibiteur se fait par simple recouvrement de la surface de l'acier.

Tous les spectres d'impédance montrés sur la figure 54 révèlent un seul demi-cercle capacitif déprimé dans l'intervalle de fréquences étudiées, ce qui indique que le processus de dissolution est lié au processus de transfert de charge [264]. De plus, les diamètres des boucles capacitives augmentent fortement avec la concentration croissante de *GLS* sans modification de celle-ci. La capacité de double couche C_{dl} et la fréquence à laquelle la composante imaginaire de l'impédance est maximale $-Z_{max}$ sont trouvées comme représenté dans l'équation :

$$C_{dl} = \frac{1}{\omega R_t} \quad (23)$$

$$\omega = 2\pi f_{max} \quad (24)$$

Tableau 42 : Paramètres électrochimiques et efficacités inhibitrices de la corrosion de l'acier C35 dans HCl 1.0 M sans et avec addition de différentes concentrations en inhibiteur.

Milieu	Conc (g/L)	R_t ($\Omega \text{ cm}^2$)	f_{max} (Hz)	C_{dl} ($\mu\text{f/cm}^2$)	E_{Rt} (%)	θ
Blanc	—	20.26	70.20	111.90	—	—
HV des GLS	0.25	80.77	20.00	98.57	75	0.75
	0.50	110.00	15.82	85.15	81	0.81
	1.00	111.30	17.00	84.15	82	0.82
	1.50	138.50	15.82	72.67	85	0.85
	2.00	445.40	6.12	58.40	95	0.95

Les données présentées dans le tableau 42, révèlent que la valeur de R_t augmente avec l'addition de l'HV des *GLS* par rapport au blanc, l'augmentation de la valeur R_t est attribuée à la formation d'un film protecteur à l'interface métal/solution. La valeur C_{dl} diminue en augmentant la concentration de l'inhibiteur, indiquant l'augmentation de l'épaisseur de la double couche électrique, suggérant que les molécules inhibitrices sont adsorbées à l'interface métal/solution [266]. L'augmentation des valeurs de R_t peut être liée également au remplacement progressif des molécules d'eau et d'autres ions initialement adsorbés sur la surface de l'acier par les molécules des huiles et par conséquent à une diminution du nombre de sites actifs [267].

Comparaison des efficacités.

Les valeurs d'efficacité inhibitrice $E\%$ calculées par les mesures de polarisation LP sont en bon accord avec celles obtenues à partir des mesures d'impédance, pour l'inhibiteur étudié.

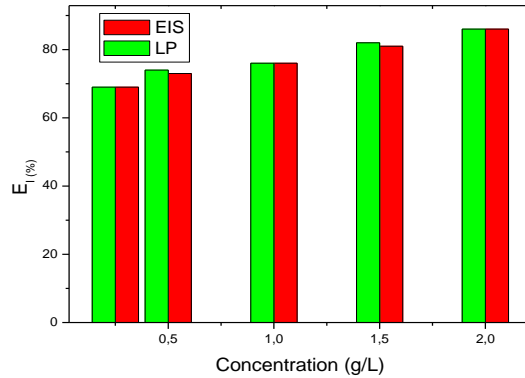


Figure 56 : Histogramme de comparaison des E (%) obtenues à partir des LP et S.I.E pour les différentes concentrations de l'HV des GLS.

La figure 56, illustre l'évolution des E (%) obtenues par la méthode S.I.E à 303 K, en fonction de différentes concentrations en huile. Le résultat de l'inhibiteur est en bon accord avec la littérature. L'étude de l'effet d'huile de partie aérienne d'*Artémisia* *atlantica* sur la corrosion de l'acier doux en milieu HCl 1.0 M a montré que $E\%$ augmente avec l'augmentation de la concentration, pour 2.76 g/L; le taux d'inhibition observé est de 91.6% à 303 K [268].

I.5. Effet du temps d'immersion.

Le suivi de l'évolution de la résistance de transfert de charge R_t de l'acier C35 à différents temps d'immersion (0.5h, 1h, 3h et 6h) dans le milieu HCl 1.0 M sans et avec l'addition de l'inhibiteur l'HV des GLS, permet d'avoir des informations importantes sur la stabilité de la couche protectrice qui se forme à la surface. La figure 57, illustre les diagrammes de Nyquist obtenus pour l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M avec l'addition 2 g/L de l'HV des GLS dans différents temps d'immersion étudiés.

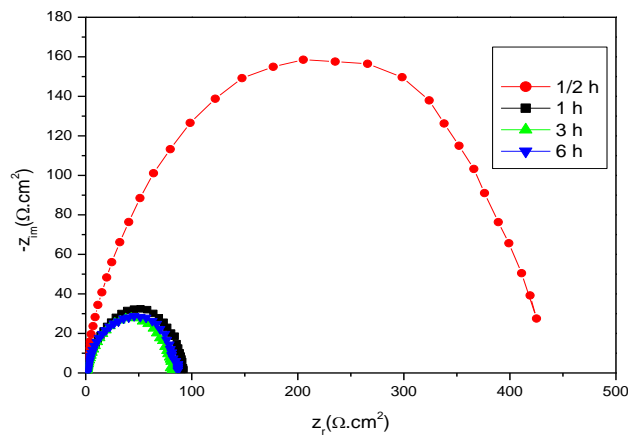


Figure 57 : Diagrammes de Nyquist de l'acier C35 dans du HCl 1.0 M avec une solution de 2 g/L des GLS en fonction des temps d'immersion.

Tableau 45 : Paramètres électrochimiques obtenus par S.I.E de l'acier C35 dans HCl 1.0 M

	$R_t / (\Omega.cm^2)$	f_{max}/Hz	$C_{dl}/(\mu F/cm^2) \times 10^{-5}$	E%
1/2 h	92	32.40	5.34	78
1 h	86	28.80	6.42	76
3 h	84	27.90	6.79	76
6 h	77	25.06	8.25	74

À partir de ces résultats, on constate que la résistance de transfert de charge R_t décroît en fonction du temps d'immersion pour atteindre une valeur maximale de $77 \Omega.cm^2$, pendant 6 heures immergées dans le milieu corrosif, alors que la capacité du double couche C_{dl} augmente une valeur de $8.25 \times 10^{-5} \mu F.cm^2$.

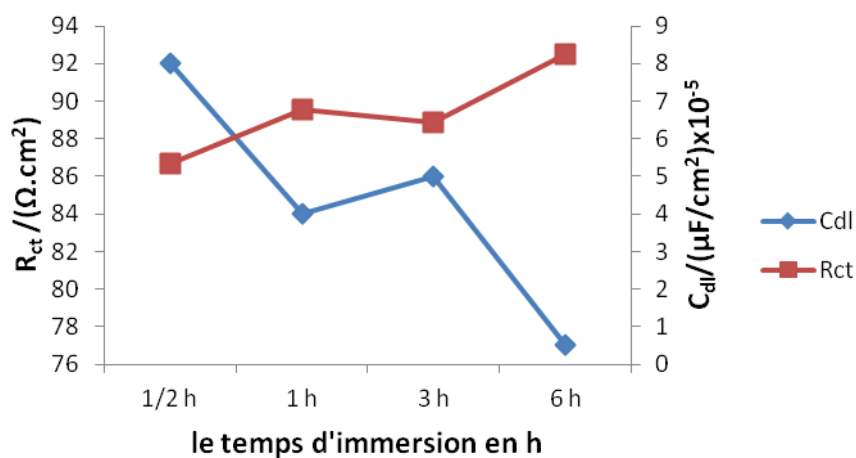


Figure 58 : Variation de R_t et de C_{dl} en fonction du temps d'immersion.

Resultats et discussion

L'augmentation de R_t et la diminution de C_{dl} sont vraisemblablement dues au déplacement des molécules d'eau par les ions Cl^- de l'acide HCl et l'adsorption des molécules organiques contenants dans l'HV des GLS sur la surface d'acier. Par contre, la diminution de R_t et l'augmentation de C_{dl} après 6 h, peut-être expliqué par la désorption de certaines molécules de la surface du substrat.

I.6. Etude de l'effet de la température mesuré par S.I.E

Pour déterminer l'effet de la température sur le comportement de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M en présence d'inhibiteur, nous avons suivi l'influence de ce paramètre après $\frac{1}{2}$ h d'immersion sur la concentration. Les figures 59 et 60 présentent les diagrammes de Nyquist obtenus à différentes températures pour le blanc et pour la concentration optimale de 2 g/L d'inhibiteur. Les diagrammes ont la même allure pour les autres concentrations, ils sont constitués d'une semi-boucle capacitive sur toute la gamme de températures étudiée. Le même comportement est observé pour les diagrammes du blanc. La présence d'une seule boucle capacitive pour tous les diagrammes d'impédance montre la formation d'une couche protectrice à la surface d'acier conduisant à l'inhibition de la corrosion [269]. La présence d'une seule boucle capacitive est attribuée au processus de transfert de charge électronique sur une surface inhomogène. Pour les diagrammes obtenus sans inhibiteur, la taille de la boucle capacitive diminue avec l'augmentation de la température, le même comportement a été enregistré en présence d'inhibiteur, cependant les boucles obtenues avec l'inhibiteur utilisé restent plus élevées que celles obtenues en solution acide seule. Ce qui montre que l'huile étudiée joue toujours son rôle en tant qu'inhibitrice de corrosion dans l'électrolyte HCl 1.0 M.

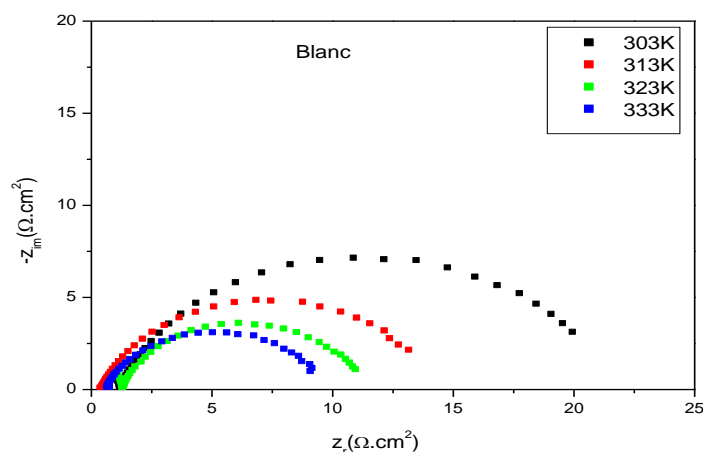


Figure 59 : Diagrammes de Nyquist de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M à différentes T° .

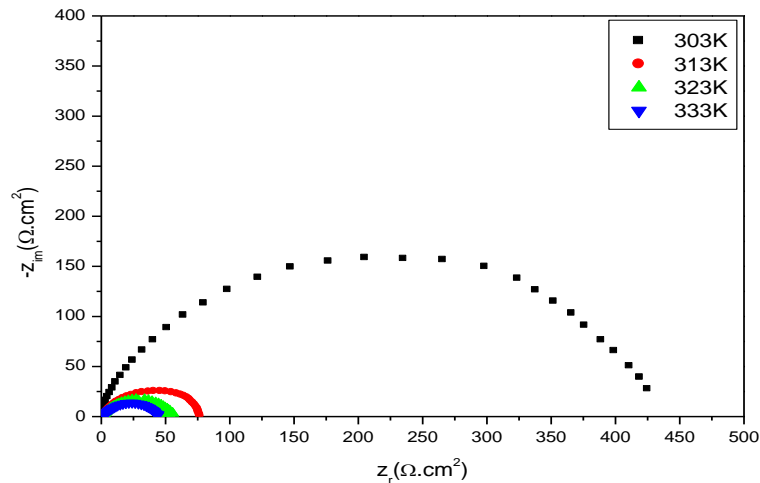


Figure 60 : Diagrammes de Nyquist de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M+ 2 g/L de l'HV.

Pour obtenir les paramètres électrochimiques, nous avons traité les diagrammes d'impédance en utilisant le circuit électrique équivalent (CPE) qui modélise l'interface électrode/électrolyte et en ajustant ses paramètres par rapport aux points expérimentaux par le logiciel Ec-Lab. Les courbes simulées se raccordent avec des données expérimentales.

I.7. Isotherme d'adsorption.

La plupart des extraits naturels contiennent des hydroxyles et des noyaux aromatiques, tels que les tanins, les flavonoïdes, les stéroïdes. Certains nombres de groupes hydroxyles sont capables de former des liaisons solides et aboutir à la formation de complexes. Ces derniers ainsi formés provoquent le blocage de certains sites actifs sur la surface métallique au contact de l'électrolyte, et par conséquent, retardent la dissolution du métal [270].

L'inhibition de la corrosion des métaux par les composés organiques a été expliquée par leur adsorption sur la surface métallique.

Les isothermes d'adsorption sont alors un complément important susceptible de déterminer le mécanisme électrochimique qui conduit à l'adsorption de ces composés sur la surface d'acier.

L'isotherme d'adsorption exprime la relation entre le taux de recouvrement d'une interface par l'espèce adsorbée θ et la concentration de l'espèce en solution C_{inh} [271].

Les isothermes d'adsorption sont très importants dans la détermination du mécanisme des réactions organo-électrochimiques [272].

Resultats et discussion

La détermination du type d'isotherme nécessite le calcul du taux de recouvrement θ . par la S.I.E en utilisant l'équation suivante :

$$\theta = \frac{R_{ct}^{inh} - R_{ct}}{R_{ct}^{inh}} (25)$$

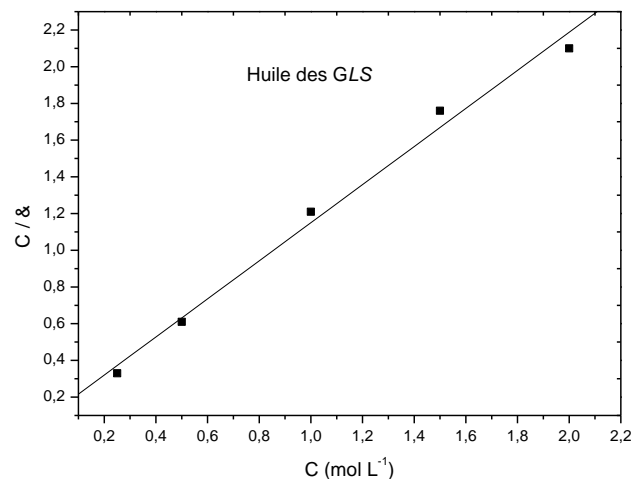


Figure 61 : Tracés de Langmuir de (C_{inch}/θ) vs C_{inch} pour l'HV des GLS.

Les valeurs de couverture de surface à différentes concentrations d'inhibiteur, obtenues à partir de mesures S.I.E à 303 K, ont été utilisées pour expliquer la meilleure isotherme pour déterminer le processus d'adsorption. Les isothermes les plus fréquemment utilisés sont Langmuir, Temkin, Frumkin, Parsons, Hill de Boer, Flory-Huggins et Dahar-Flory-Huggins et Bockris-Swinkel. Cependant, le meilleur ajustement est obtenu à partir de l'isotherme de Langmuir (figure 61 : coefficient de corrélation).

Les données ont été testées graphiquement, voir la figure 63, en ajustant à l'isotherme de Langmuir qui est donnée par l'équation où C_{inh} est la concentration d'inhibiteur d'équilibre, K_{ads} constante d'équilibre adsorbant. À partir des intersections de l'axe C/θ des droites, la valeur K a été calculée ; $K = 8.43\text{L/g}$. K est lié à l'énergie libre d'adsorption standard de Gibbs.

Lorsque R est la constante de gaz universelle, T la température thermodynamique et la concentration d'eau dans la solution est de 1000 g/L. Généralement, pour des valeurs d'environ -20 kJ mol^{-1} ou moins négatives, le type d'adsorption est considéré comme une physisorption ; ceux autour de -40 kJ mol^{-1} ou plus négatifs sont associés à la chimisorption [273].

Cependant, le calcul de la valeur de l'HV des *GLS* n'est pas possible car la masse moléculaire des composants de l'huile n'est pas connue. Cette limitation est notée par certains auteurs dans le cas des extraits végétaux utilisés comme inhibiteurs de corrosion pour l'acier en milieu acide [274].

Les valeurs de ΔG_{ads} calculées sont inférieures à -20 kJ mol^{-1} dans le cas de l'inhibiteur, montrant que cet inhibiteur est physisorbé sur la surface métallique. La dépendance de ΔG_{ads} à la température, peut-être interprétée selon ce qui suit :

Si les valeurs de ΔG_{ads} augmentent en fonction de la température (deviennent moins négatives), alors le processus d'adsorption est exothermique, l'adsorption de l'inhibiteur est influencée par l'augmentation de la température provoquant ainsi sa désorption de la surface de l'acier.

Si les valeurs de ΔG_{ads} diminuent en fonction de la température (deviennent plus négatives), alors le processus d'adsorption est endothermique, l'adsorption de l'inhibiteur est favorisée par l'augmentation de la température. Le cas (a) est observé pour l'adsorption de l'inhibiteur étudié à la surface de l'acier C38 dans une solution HCl en fonction de la température, indiquant ainsi que le processus d'adsorption est exothermique [275]

Les valeurs de moins en moins négatives de ΔG_{ads} sont accompagnées d'un processus d'adsorption exothermique, ce qui est en parfait accord. Quand le processus d'adsorption est exothermique, les valeurs de ΔG_{ads} doivent connaître une diminution et vis versa [276]

II. Etude de l'extrait méthanolique sur l'acier C35 (Région Tafraout).

II.1. Courbes de polarisation.

II.1.1. Effet de concentration.

La figure 62, montre les courbes de polarisation cathodique et anodique de l'acier C35 dans du HCl 1.0 M en l'absence et la présence de l'extrait de MeOH des *GLS* de diverses concentrations à 303 K, tandis que les valeurs des paramètres électrochimiques ajoutés sont présentées dans le tableau 46. L'addition des *GLS* à une solution d'HCl 1.0 M a ralenti la dissolution anodique de l'acier C35 et retardé la réaction de dégagement d'hydrogène cathodique. L'extrait de MeOH des *GLS* peut être classé en tant qu'inhibiteur à effet relativement mixte dans du HCl 1.0 M, car son effet est présenté à la fois cathodique et anodique.

Resultats et discussion

Le tableau 4, montre que les valeurs de densité de courant de corrosion I_{corr} de l'acier C35 dans les solutions contenant l'inhibiteur étaient inférieures à celles de la solution à blanc à toutes les concentrations d'inhibiteur. Les valeurs de b_a et b_c sont légèrement modifiées, ce qui indique que le mécanisme d'inhibition est apparu en bloquant simplement les sites cathodiques et anodiques disponibles à la surface de l'acier C35.

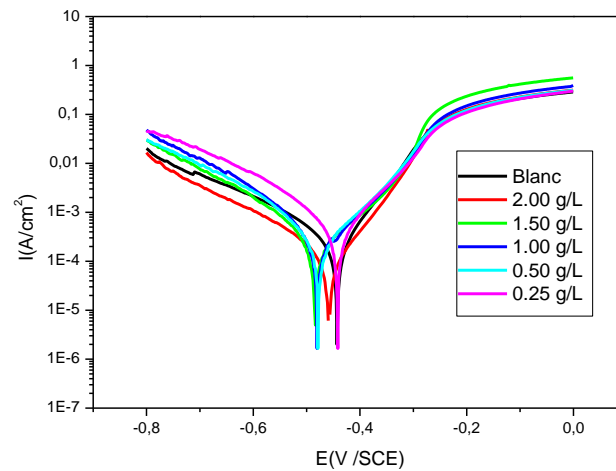


Figure 62 : Courbes de polarisation cathodique et anodique de l'acier C35 dans du HCl 1.0 M en présence de différentes concentrations d'extrait MeOH des GLS à 303 K.

Tableau 46 : Paramètres électrochimiques et efficacité inhibitrice de la corrosion de l'acier au carbone C35 dans du HCl 1.0 M sans et avec addition de différentes concentrations à 303 K d'extrait MeOH des GLS.

Inhibiteur (g/L)	$-E_{corr}$ (mV/ECS)	I_{corr} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	$-b_c$ (mV/dec)	b_a (mV/dec)	E_1 (%)
Blanc	447.60	779.00	93.30	85.00	—
0.25	441.17	328.73	80.70	67.80	58
0.50	481.39	199.42	76.70	76.00	74
1.00	479.47	188.52	82.10	103.90	76
1.50	485.02	186.96	100.70	128.10	76
2.00	461.55	125.00	62.00	59.90	84

Les valeurs enregistrées montrent que l'élévation de la concentration en extrait de MeOH des GLS et la réduction de I_{corr} , donnant lieu à 84% à 2 g/L, mais modifient légèrement les valeurs d' E_{corr} , montrent qu'il pourrait agir en tant qu'inhibiteur de corrosion [277]. La plus grande protection contre la corrosion obtenue à ces concentrations suggère que l'extrait de MeOH pourrait être un inhibiteur de corrosion efficace.

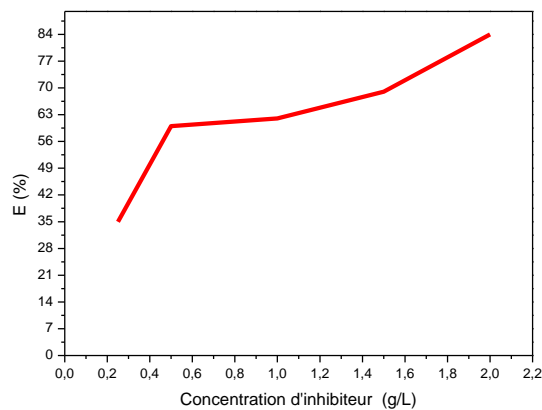


Figure 69 : Efficacité d'inhibition E% en fonction de la concentration g/L de l'extrait de MeOH des GLS à la T° ambiante.

La modification de l'efficacité inhibitrice de notre inhibiteur en fonction de la concentration en milieu HCl 1.0 M (figure 70) augmente avec la concentration.

II.1.2. Effet de la température.

Les composés organiques peuvent être plus facilement altérés lorsque la température augmente. L'augmentation entraîne donc une diminution de la résistance à la corrosion de l'acier [278]. Les données de dosage des paramètres électrochimiques de l'acier C35 dans du HCl 1.0 M en fonction de la température avec l'inhibiteur de l'extraction de MeOH GLS à la concentration de 2 g/L sont résumés dans le tableau 47. Il est certain que les mesures I_{corr} augmentent en augmentant la température dans les deux solutions et que la valeur d'efficacité diminue et que l'efficacité inhibitrice diminue avec l'augmentation de la température de 303 à 333 K en absence et en présence d'extrait MeOH des GLS, ce qui conduit à l'augmentation de la densité de courant, l'augmentation de la température affecte les liaisons entre l'inhibiteur et la surface de l'acier C35.

Pour expliquer le mécanisme d'inhibition et calculer les énergies d'activation du processus de corrosion, des mesures de polarisation sont effectuées à différentes températures en l'absence et en présence d'une concentration de 2 g/L de cet inhibiteur.

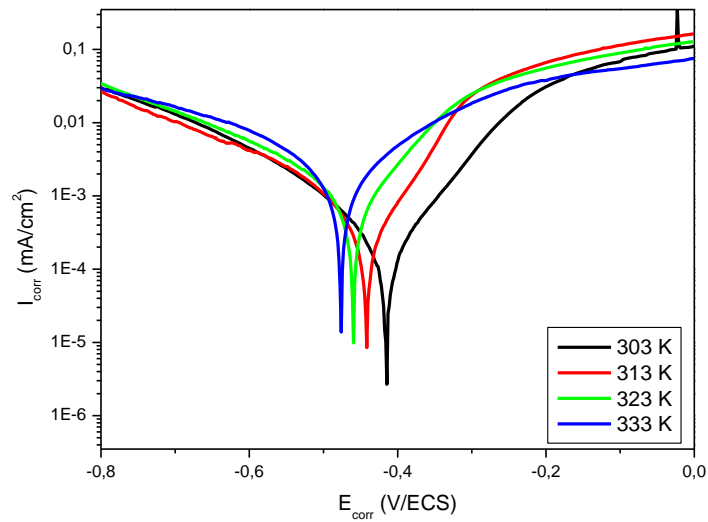


Figure 70 : Effet de la T° sur les courbes de polarisation de l'acier C35 dans un milieu HCl 1.0 M en l'absence d'extrait MeOH des GLS.

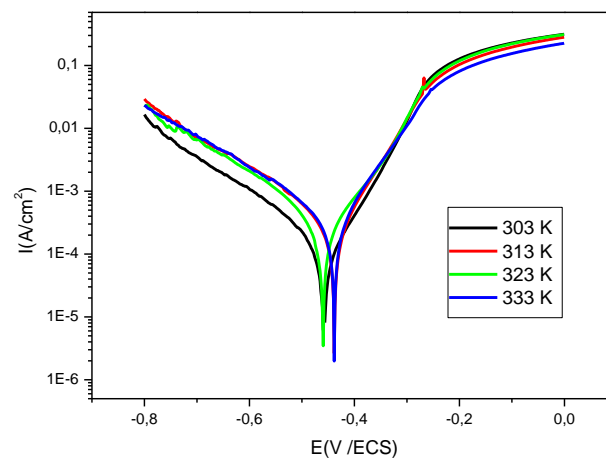


Figure 71 : Effet de la T° sur les courbes de polarisation de l'acier C35 en milieu HCl en présence d'extrait MeOH des GLS à 2 g/L.

Resultats et discussion

Tableau 45 : Influence de la T° sur les paramètres électrochimiques de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M en l'absence et en présence de 2g/L de l'extrait MeOH des GLS.

Inhibiteur	T K	-E _{corr} (mV/ECS)	I _{corr} (μA/cm ²)	-bc (mV/dec)	ba (mV/dec)	E (%)
1.0 M HCl	303	447	779	93.3	85.0	
	313	444	1100	125.5	115.3	
	323	451	1500	111,1	111.5	
	333	443	2118	200.3	161.8	
L'extrait MeOH des GLS 2 g/L	303	461.55	125.00	62.00	59.90	84
	313	439.57	191.41	115.70	75.30	75
	323	459.20	221.85	115.20	99.50	71
	333	438.51	242.11	140.1	83.30	68

Les données correspondantes sont données dans le tableau 46. Les paramètres d'activation pour le processus de corrosion sont calculés à partir d'une courbe de l'équation Arrhenius.

Les résultats, présentés dans le tableau 46, montrent que l'énergie d'activation augmente lors de l'addition d'anticorrosif par rapport à la solution à blanc. L'élévation d' E_a peut être expliquée par l'adsorption physique. Ainsi, les molécules étudiées créent une fermeture au transfert de charge et de masse.

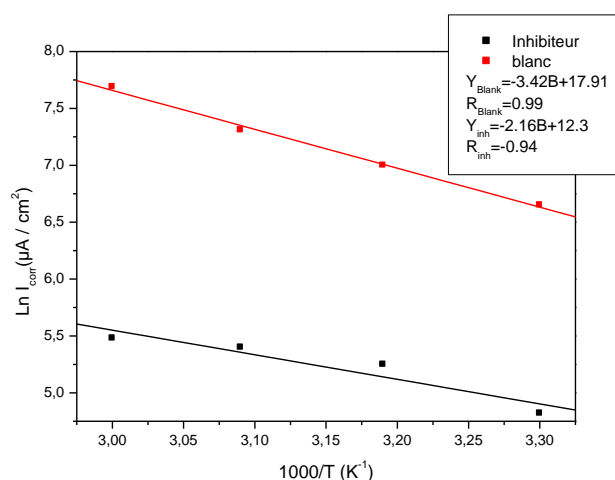


Figure 72 : Diagrammes d'Arrhenius pour l'acier C35 dans HCl 1.0 M et HCl 1.0 M + 2 g/L d'extrait MeOH des GLS.

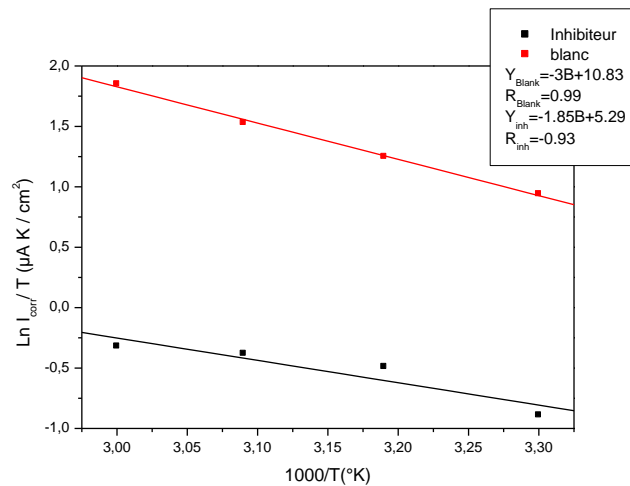


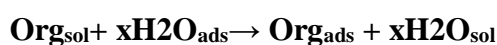
Figure 73 : Diagrammes d'état de transition pour l'acier C35 dans 1.0 M HCl et 1.0 M HCl + 2 g/L d'extrait MeOH des GLS.

Tableau 46 : Paramètres d'activation de l'acier C35 dans un milieu 1.0 M HCl sans et avec addition de l'inhibiteur à la concentration optimale.

	ΔH_a (kJ/masse moléculaire)	ΔS_a (J/ masse moléculaireK)	E_a (kJ/ masse moléculaire)
Blanc	24.94	-107.48	28.43
2 g/L inhibiteur	15.38	-153.47	17.95

La dissolution de l'acier C35 est difficile, comme en témoigne le signe positif de ΔH_a qui reflète la nature endothermique du processus. Les valeurs d' E_a et ΔH_a varient de la même manière (tableau 46). Ce résultat permet d'examiner la réaction thermodynamique connue entre E_a et ΔH_a [279].

les données ΔS_a augmente négativement en présence de l'extrait de MeOH des GLS par rapport à la solution témoin, ce qui reflète la formation d'une couche stable d'inhibitrice ordonnée à la surface [280], ce changement est lié au fait de l'ordre et du désordre des molécules d'inhibiteur à la surface de l'acier C35. L'augmentation des valeurs ΔS_a par l'adsorption des molécules d'inhibiteur sur la surface métallique de la solution acide peut-être observé comme un remplacement total entre les molécules d'inhibiteur dans la phase aqueuse et les molécules de H_2O à la surface de l'électrode. En effet, l'adsorption des molécules d'inhibiteur est suivie de la désorption des molécules de H_2O de la surface de l'électrode [281] :



Où x est le nombre de molécules d'eau remplacées par une molécule organique.

Resultats et discussion

II.2. Mesures par S.I.E

L'étude des propriétés protectrices des inhibiteurs de métaux par la méthode S.I.E permet d'obtenir des résultats plus fiables, à l'interface métal/solution [282].

Tableau 47 : Paramètres électrochimiques du rapport de rendement de l'acier C35 dans HCl 1.0 M sans et avec addition de l'extrait MeOH des GLS à la T° ambiante.

Milieu	Conc (g/L)	$R_t(\Omega\text{cm}^2)$	$f_{\max}(\text{Hz})$	$C_{dl}(\mu\text{F}/\text{cm}^2)$	$E_{Rt}(\%)$	θ
Blanc	—	20.26	70.20	111.90	—	—
Extrait MeOH (GLS)	0.25	57.07	10.00	2.79	64	0.64
	0.50	109.62	7.93	1.83	81	0.81
	1.00	125.84	7.93	1.59	83	0.83
	1.50	125.69	6.32	2.00	83	0.83
	2.00	210.68	10.00	0.75	90	0.90

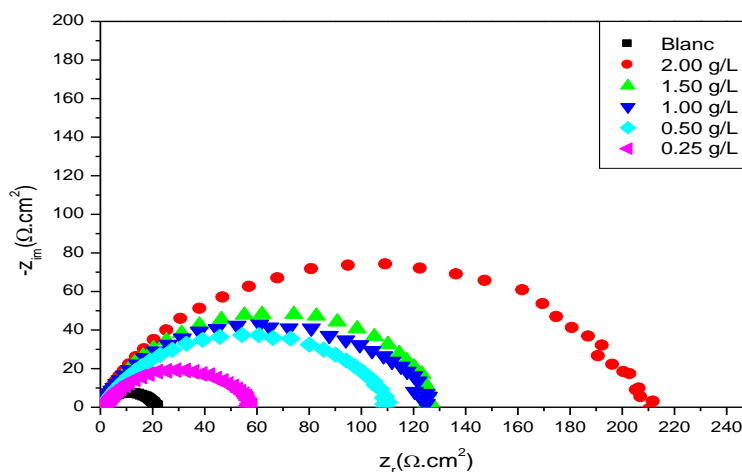


Figure 74 : Diagrammes de Nyquist pour l'électrode en acier au C35 avec et sans extrait MeOH des GLS après 30 min d'immersion à 303 K.

La figure 75 révèle un seul demi-cercle capacitif déprimé sur la plage de fréquences étudiée, indique que le processus de dissolution est lié au processus de transfert de charge, appelé effet de dispersion de fréquence en raison de l'inhomogénéité de la surface de l'électrode métallique [283]. Les diamètres des boucles capacitives croissent fortement en la concentration croissante de l'extrait MeOH des GLS sans modification de la forme de la boucle. Les paramètres d'impédance dérivés de ces tracés sont présentés dans le tableau 49 montrent que la valeur de R_t augmente avec l'addition d'extrait MeOH des GLS sur la solution à blanc.

L'augmentation de la valeur de R_t étant fournie pour la formation d'un film protecteur à la limite métal/solution. La valeur de C_{dl} diminue à mesure que la concentration de l'inhibiteur augmente,

indiquant suggérant que les molécules d'inhibiteur sont adsorbées à l'interface métal/solution [266].

II.3. Isotherme d'adsorption.

Les valeurs ont été testées graphiquement, (voir figure 79).

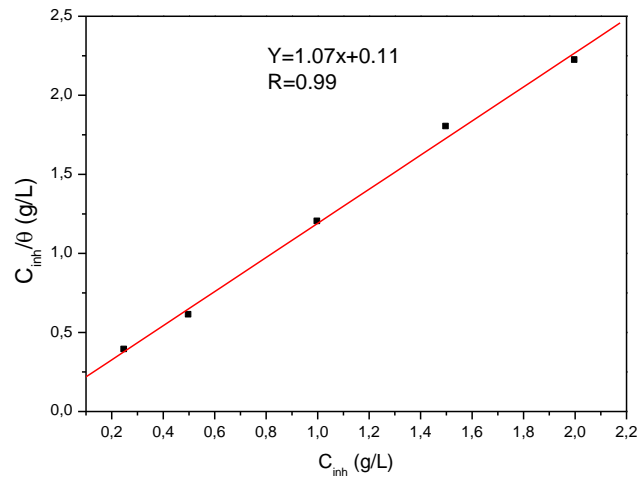


Figure 75 : Tracés de Langmuir de C_{inh}/θ versus C_{inh} pour l'extrait MeOH des GLS.

A partir des intersections des droites C/θ , la valeur K a été calculée ; $K = 8.43$ L/g. K est lié à l'énergie libre standard d'adsorption de Gibbs ΔG_{ads} .

II. Analyse de surface par microscopie électronique à balayage.

L'image de la surface de l'acier C35 après 3h d'immersion à 25°C dans HCl 1.0 M seul (figure 78) montre que cette dernière est fortement endommagée avec la présence d'amas gris et de quelques piqûres. Ceci montre nettement que l'acier subit une corrosion quasi généralisée sur toute la surface en absence de l'inhibiteur. Les zones grises correspondent aux pellicules d'oxyde de fer. et que l'acier a subi une corrosion en absence des inhibiteurs.

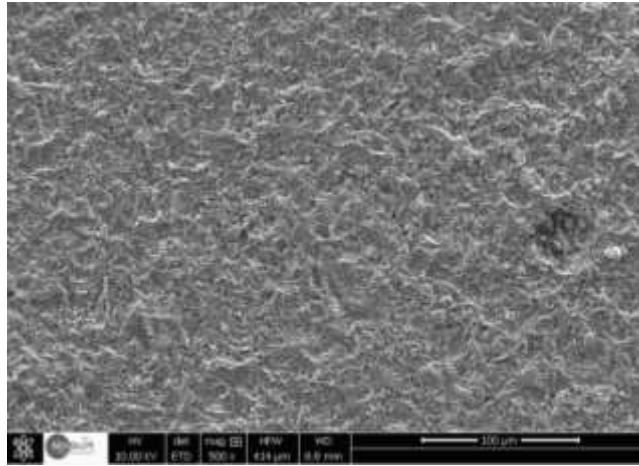


Figure 76 : Micrographies de la surface de l'acier C35, en immersion à 25 °C dans HCl 1.0 M

Nous constatons sur les images de la surface de l'acier après 3h d'immersion en milieu HCl 1.0 M à 25°C en présence des inhibiteurs du HV et MeOH (figures 77, 78.), montrent que les surface sont lisse en présence d'extraits HV et MeOH dans la solution HCl 1.0 M. Par comparaison avec l'image obtenue sans inhibiteur, nous pouvons conclure que la surface de l'acier est presque exempte de corrosion en présence de l'inhibiteur. Ceci est dû à la formation d'une couche adsorbée d'extrait utilisé sur la surface de l'acier. Ces observations montrent que nos extraits empêchent la corrosion de l'acier C35 en limitant l'accès de l'électrolyte sur la surface, par la formation d'un dépôt adhérent, stable et insoluble qui limite l'accès de l'électrolyte à la surface de l'acier.

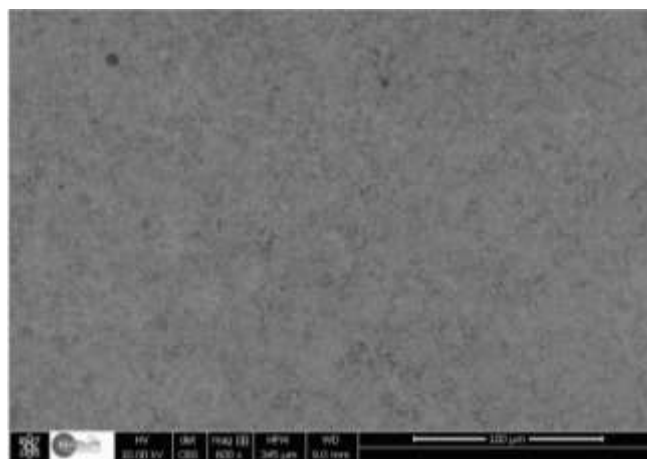


Figure 77 : Surface de l'acier C35, en immersion à 25 °C dans HCl 1.0 M en présence d'HV

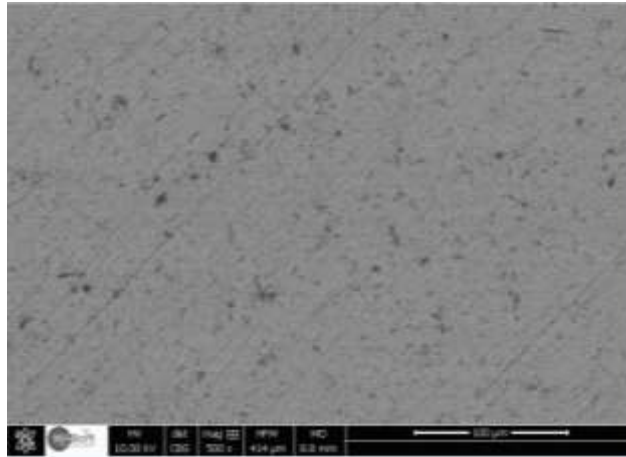


Figure 78 : Surface de l'acier C35, en immersion à 25 °C dans HCl 1.0 M en présence d'extrait méthanolique.

III Conclusion

L'essence du présent travail peut être résumée comme suit :

La variation de l'efficacité inhibitrice de l'inhibiteur en fonction de la concentration en milieu HCl 1.0 M est illustrée par la figure ci-dessous.

L'efficacité inhibitrice augmente avec l'augmentation de la concentration.

Nous constatons qu'il y a un bon accord entre les valeurs de l'efficacité inhibitrice déterminées par gravimétrie et celles issues des mesures d'impédance d'une part, et l'efficacité inhibitrice déterminée, par les courbes de polarisation d'autre part, de meme cette dernière est plus faible que celles déterminées par perte de poids et S.I.E.

Les différents composés bioactifs détectés dans divers extraits MeOH des *GLS* peuvent être responsables de l'anticorrosion.

L'efficacité d'inhibition des extraits MeOH des *GLS* augmente avec l'augmentation de la concentration d'inhibiteur mais diminue avec l'augmentation de la température.

Les tests de polarisation potentiodynamique ont révélé que l'anti-corrosif étudié était un inhibiteur de type mixte.

Les mesures S.I.E ont montré que la résistance au transfert de charge R_t augmente et que la capacité de la double couche C_{dl} diminue en présence d'inhibiteurs, conduisant à l'adsorption de molécules d'inhibiteur à la surface du carbone en acier.

Resultats et discussion

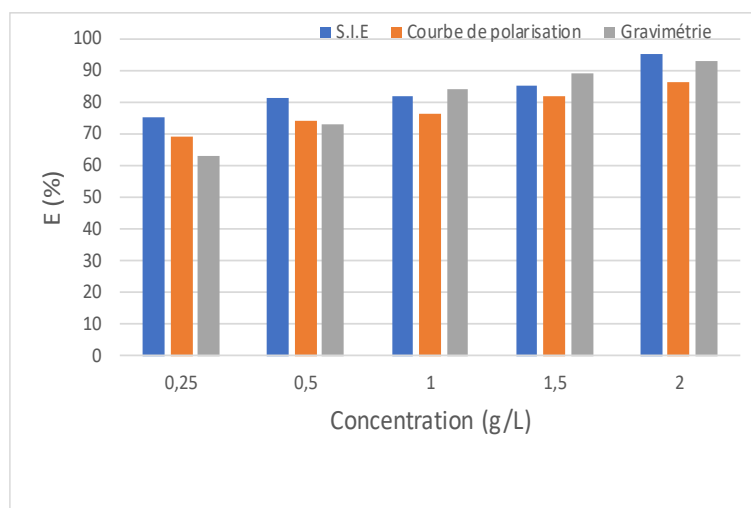


Figure 79 : Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration dans HCl 1M

Tableau 48 : Récapitulatif comparatif du test anticorrosif par l'HV et l'extrait MeOH

	Résultats		Observations
	Huile végétale	Extrait MeOH	
Effet T°	L'efficacité de l'anticorrosion E% est maximum à 93% 2 g/L	L'efficacité de l'anticorrosion E% est maximum à 84% à 2 g/L	E% de l'HV des GLS est plus remarqué à celle de l'extrait MeOH.
Effet de concentration	L'augmentation de la concentration de HV des GLS diminue l'intensité de courant I_{corr} , atteignant 86 % à 2 g/L .	L'augmentation de la concentration de HV des GLS diminue l'intensité de courant I_{corr} , atteignant 84 % à 2 g/L .	
E_a (KJ / masse)	46.74	17.95	L'élévation d' E_a peut être expliquée par l'adsorption physique
ΔH_a (KJ/ masse)	44.10	15.38	
$-\Delta S_a$ (JK ⁻¹ / masse)	60.44	153.47	
Mesures par (SIE)	95 %	90 %	
Isotherme d'adsorption	L'adsorption de l'inhibiteur testé suit l'adsorption de l'isotherme de Langmuir.		

Conclusion

Conclusion générale et perspectives.

Dans ces dernières années, la recherche scientifique est très appuyée sur la connaissance et l'emploi des plantes médicinales en domaine de la santé publique comme un remède efficace et sans antécédents. En effet, les molécules bioactives synthétisées par la plante constituent des métabolites naturels très étudiés en phytothérapie par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antioxydants, antimicrobiens naturels voire anticorrosifs. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* ces activités par des extraits des graines de *LS*.

Le choix de cette plante est basé sur quelques données ethnopharmacologiques (infections microbiennes, hypertension, troubles intestinaux, ulcère, cancer et antidiabétique etc).

L'extraction de l'huile et extraits des graines du *LS* a été réalisée par soxhlet et macération. Le rendement moyenne des huiles est entre 9.132 ± 0.001 et 9.940 ± 0.002 le rendement moyenne de l'extrait MeOH est de 19.03 ± 1.18 à 31.90 ± 1.14 tandis rendement moyenne de l'extrait EtOH est de 10.56 ± 0.55 à 21.21 ± 1.01 .

Dans la première partie d'étude, les résultats par CPG suivi de MS des *GLS* ont permis d'identifier 17 composants représentant les esters méthyliques d'acides gras avec les constituants principaux sont : acide linoléique 33.41%, acide oléique 23.61%. Le principal stérol de l'huile est le β -sitostérol qui représente 49.64% campestérol 23.80%, Δ -5 et Avenasterol 13.39%, le Δ -5-Stigmastérol 3.85%, le cholestérol 3.69 % et le stigmastérol 2.6%.

La composition de tocophérol a été déterminée selon la méthode HPLC des *GLS* contenait de grandes quantités tocophérols de 1940.26 ppm, avec une dominance du γ -tocophérol.

La quantification par des méthodes spectrophotométriques, nous a permis de déterminer les teneurs des polyphénols par le réactif du Folin-Ciocalteu, en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et les tannins par le test de la vanilline.

Les résultats obtenus des quatre régions étudiées des *GLS* nous ont révélé que la région Tafraout constitue une source encourageante en polyphénols de (94.48 ± 2.04 mg EAG/ g de la matière extraite du méthanol). Elle présente des teneurs en tannins de (26.50 ± 0.12 mg EC/ g de la matière extraite du méthanol) et en flavonoïdes de (37.63 ± 3.71 à mg EC/ g de la matière extraite du méthanol). En effet, les deux extraits MeOH et EtOH sont riches en composés polyphénoliques avec une prédominance dans l'extrait méthanolique en raison de leur solubilité plus élevée dans le méthanol.

Conclusion

Dans la deuxième partie, nous sommes aussi intéressés par l'étude des propriétés antioxydantes des extraits MeOH et EtOH des GLS des quatre régions par trois techniques complémentaires (DPPH, FRAP et ABTS). Et nous déduisons que la capacité antioxydante est plus importante concernant l'extrait MeOH et nous avons enregistré l'ordre en teneur comme suit : TF>HZ>BA>RM. Donc ces deux extraits (MeOH et EtOH) possèdent une activité antioxydante importante *in vitro*, qui nous amène à avancer la conclusion suivante, c'est que les extraits étudiés ont révélé des réponses inhibitrices à différents niveaux à piéger les radicaux DPPH, l'hydroxyle et à réduire le fer. Et d'après l'étude statistique, nous remarquons que la corrélation obtenue entre la capacité antioxydante et la concentration des métabolites est positive avec une contribution assez importante des antioxydants de la plante qui peuvent être des tannins ou des flavonoïdes.

Dans troisième partie, la méthode des disques sur plusieurs extraits, on a révélé une activité considérable de l'extrait d'acétate d'éthyle et de l'extrait MeOH des graines de *LS*, quia montré une activité antibactérienne importante vis-à-vis des germes pathogènes avec un effet bactéricide sur le germe *R. equi* même l'extrait MeOH montré une inhibition bactérienne par la méthode de dilution au niveau 1/100. Tandis que l'extrait huileux ne possède aucun effet antibactérien de l'extrait d'acétate éthyle vis-à-vis de ces souches testées. A la même dilution nous n'avons pas marqué une inhibition des fongiques (*C. versicolor*, *G. trabeum*, *C. puteana*, *P. placenta*, *P. digitatum*, *P. expansu*, *A. niger*) à la dilution souhaitée. Nos résultats suggèrent donc de dire que nos extraits des graines du *LS* ont une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne de toutes les souches testées au moins de 1/100 ou de changer par une méthode adéquate et plus fiable.

La méthode de puits nous a permis aussi de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile et des extraits des graines du *LS* vis-à-vis de quatre bactéries (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *R. equi*). Ce pouvoir est très important, avec des zones d'inhibition variant entre 11.26 ± 0.80 mm et 19.47 ± 0.49 mm. De même la méthode par la série de dilution a confirmé les résultats de la méthode de l'aromatogramme. Les CMI obtenues varient entre de (0.5 à 8 mg/ml). Et les valeurs de la CMB de l'huile des GLS s'avèrent élevées (1 à 8 mg/ml).

Nos résultats suggèrent que les extraits des graines du *LS* ont une activité antibactérienne intéressante pour les bactéries et non négligeable pour les fongiques. Nous pouvons conclure que les extraits des graines du *LS* peuvent être considérés comme un agent conservateur très marqué pour l'industrie alimentaire capable d'empêcher l'oxydation des aliments et de réduire la croissance bactérienne responsable d'altération des aliments. À l'essor de la présente étude, il

Conclusion

serait intéressant de mener une recherche plus approfondie sur nos extraits des graines du *LS* afin de déterminer l'efficacité antibactérienne applicable en industrie pharmaceutique.

De tous les résultats obtenus, nous avons déduit que la fraction méthanolique présente une bonne activité antioxydante spécialement de la région Tafraout. L'ensemble de ces données a permis d'évaluer les activités antioxydantes des graines *LS* de plante à intérêt biologique afin d'utiliser comme ressource dans le domaine thérapeutique. Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

Elargir la recherche des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : antitumorale, antidiabétique et anti-inflammatoire pour caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques.

À l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une recherche plus approfondie sur nos extraits des graines du *LS* afin de déterminer l'efficacité antibactérienne applicable en industrie pharmaceutique.

Concernant l'inhibition de la corrosion de l'acier C35 dans l'acide chlorhydrique 1.0 M par les HV et de l'extrait MeOH des *GLS* biodégradables et respectueux de l'environnement, nos inhibiteurs sont des solliciteurs potentiels à la protection d'acier en milieu acide.

Nous avons étudié les propriétés inhibitrices des HV et de l'extrait MeOH comme suit :

Sur l'évaluation du pouvoir inhibiteur des inhibiteurs sur l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M. Pour ce faire, l'influence de la concentration, du temps d'immersion et de la température sur les processus de corrosion en l'absence et en présence d'inhibiteur a été étudiée par des mesures électrochimiques (courbes de polarisation et spectroscopie d'impédance électrochimique). Des analyses de surface ont également été réalisées par l'intermédiaire de la microscopie électronique à balayage.

Les résultats révélés sur l'influence de la concentration montrent qu'un maximum d'efficacité est obtenu pour une concentration de 2 g/L, avec un pourcentage de 93% pour HV et de 84% pour extrait MeOH. Les courbes de polarisation ont montré une diminution de la densité des courants anodiques et cathodiques en fonction de la concentration. Les diagrammes d'impédance ont montré qu'il s'agit d'un processus de transfert de charge sur une surface hétérogène pour toutes les concentrations étudiées. Les diagrammes sont constitués d'une boucle capacitive, généralement décrite comme étant représentatifs de la résistance de transfert de charge à l'interface métal/électrolyte. L'amplitude des diagrammes est affectée par la variation de la concentration, en effet, la taille de la boucle capacitive augmente avec l'augmentation de la concentration.

L'effet du temps d'immersion a également été réalisé, cette étude effectuée pour une concentration de 2 g/L a permis d'avoir des informations sur la stabilité de la couche inhibitrice formée sur la surface

Conclusion

métallique. La résistance de transfert de charge augmente jusqu'à 3 heures pour HV heures. Au-delà, la diminution de la résistance de transfert de charge a été observée. Cette diminution est due à la désorption des molécules à la surface du métal. Ces résultats ont confirmé la stabilité des extraits qui peuvent ainsi être utilisés comme inhibiteurs temporaires de la corrosion de l'acier C35 en milieu HCl 1.0 M.

Les essais concernant l'effet de la température ont été menés dans l'intervalle 303-333 K. Ils ont montré que l'augmentation de la température induit une diminution de l'activité inhibitrice pour des inhibiteurs qui la température de 333 K semble être critique.

Le tracé des différentes isothermes a montré que l'adsorption des molécules obéit à l'isotherme de Langmuir pour les deux extraits. Cette étude a également permis de mettre en évidence la physisorption des molécules sur la surface à travers plusieurs paramètres thermodynamiques : La diminution de l'efficacité inhibitrice avec la température suggère également la physisorption des molécules des inhibiteurs.

Les observations par microscopie confirment la présence d'une couche protectrice formée sur la surface de l'acier C35 pour HV.

Finalement, ce travail a permis de mettre en valeur les propriétés inhibitrices des extraits de l'espèce *LS* avec des pourcentages d'inhibition similaires voire plus élevés que ceux que l'on retrouve dans la littérature.

Les perspectives intéressantes de ce travail seraient :

-d'élargir le champ d'études à des métabolites primaires et secondaires tel que les flavonoïdes, les tanins et des principalement des alcaloïdes.

Référence bibliographique.

Référence bibliographique

1. Noman, A., *Influence of different doses of nitrogen fertilizer on ajwain*, 2003, M. Sc. Dissertation. pp-1. Univ. of Agric. Faisalabad. Pakistan.
2. Evans Schultes R., *Atlas Des Plantes Hallucinogènes*,. 1982. 1^{er} éd: p. 173.
3. Dery, B., *Indigenous knowledge of medicinal trees and setting priorities for their domestication in Shinyanga Region, Tanzania*1999: World Agroforestry Centre.
4. M., A.Y.B., *Les médecines parallèles : quelques lignes de force*. 1998.
5. Evans, W., *Pharmacognosy 15*, 2002, London: WB Sanders Publishing Company) Trease and Evans.
6. Jouad, H., et al., *Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane)*. Journal of Ethnopharmacology, 2001. 77(2-3): p. 175-182.
7. Kahouadji, M.S., *Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Maroc oriental*, 1995, Université Mohammed premier, Faculté des Sciences, Oujda. p. 205.
8. Dahanukar, S., R. Kulkarni, and N. Rege, *Pharmacology of medicinal plants and natural products*. Indian Journal of Pharmacology, 2000. 32(4): p. S81-S118.
9. Organisation Mondiale de la Santé. . Genève, *Réglementation des médicaments à base de plantes*,, 1998.
10. Tabuti, J.R., K.A. Lye, and S. Dhillion, *Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration*. Journal of Ethnopharmacology, 2003. 88(1): p. 19-44.
11. Guedje, N.M., et al., *Opportunités d'une exploitation soutenue des plantes médicinales dans l'aménagement forestier*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 2010. 4(4).
12. Quayou, A., *Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base*, 2003, Thèse de Doct. Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc.
13. Rapport, *les systemes de la medecine traditionnelle et leurs implications ethiques comité internationale bioéthique*, in SHS/EGC/IBC2013.
14. Boullard, B., *Plantes médicinales du monde: croyances et réalités*2001: De Boeck Secundair.
15. Bellakhdar, J., *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base: précis de phytothérapie moderne*2006: Eds Le Fennec.
16. Hostettmann, K., O. Potterat, and J.-L. Wolfender, *The potential of higher plants as a source of new drugs*. Chimia International Journal for Chemistry, 1998. 52(1-2): p. 10-17.
17. Carillon, A., *place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXI^es*. 2009.
18. Bellakhdar, J., *Plantes Arom. Et Médicinales du Maroc*. 1984: p. p : 5.
19. Désertification., H.-C.a.E.F.e.à.I.L.c.l., *Atelier international sur le potentiel et les contraintes de la production et la commercialisation des plantes aromatiques et huiles essentielles en Afrique*, , 2012.
20. Candolle., D., *Origine des plantes cultivées*. 1886(3^e éd): p. p. 68.
21. Belbey, M. and S. Safi, *Etude phytochimique de deux plantes endémique (ouest algérien) Centaurea nigra-Lepidium sativum*. 2017.
22. Thellung., *ADieGattungLepidium*, 1907. p. pp. 123-126.
23. F. Nuez, J.E.H.-B., in: J.E. Hernando Bremejo, J. Leon, *Plant Production and Protection Neglected Crops: 1492 From a Different Perspective*, 1994. Series No. 26, FAO p. pp. 303–332.
24. INDIA, C.O.S., *The wealth of India. A dictionary of Indian raw materials and industrial products. Raw materials. Vol. 6: LM*. The wealth of India. A dictionary of Indian raw materials and industrial products. Raw materials. Vol. 6: LM., 1962. 6.
25. India., G.o., *The Ayurvedic Pharmacopoeia of India.*, D.o.I.S.o.M.a.H.M.o.H.a.F. Welfare, Editor 2001. p. p. 28.

Référence

26. Gupta S University of Agricultural Sciences, B., *Effect of nutrients and plant density on growth and yield of garden cress (Lepidium sativum L.)* (2007).
27. Al-Yahya, M., et al., *Pharmacological and safety evaluation studies on Lepidium sativum L., seeds*. Phytomedicine, 1994. 1(2): p. 155-159.
28. Divanji Manohar, G.L.V., S.Nagesh, Vishal Jain, H.N.Shivaprasad INTERNATIONAL JOURNAL OF PHYTOTHEAPY RESEARCH, 2012. Volume 2 (Issue 1).
29. Perry, L.M. and J. Metzger, *Medicinal plants of East and Southeast Asia: attributed properties and uses*1980: MIT press.
30. Ageel, A.M., Tariq, M., Mossa, J. S., Al-Yahya, M. A. and Said,M. S, *Plant s used in Saudi Folk Medicine*. 1987: p. 294.
31. Kloos, H., *Preliminary studies of medicinal plants and plant products in Ethiopian markets*. Journal of Ethiopian Pharmaceutical Association, 1976. 2: p. 18-28.
32. Nadkarni, K.M., *Indian Materia Medica Revised and Enlarged*. Popular Prakashan, Bombay, 1986: p. 736–737.
33. Patole, A., V. Agte, and M. Phadnis, *Effect of mucilaginous seeds on in vitro rate of starch hydrolysis and blood glucose levels of NIDDM subjects with special reference to garden cress seeds*. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 1998. 20(4): p. 1005-1008.
34. Gunstone, F.D., *Rapeseed and canola oil: production, processing, properties and uses*2004: CRC Press.
35. Bellakhdar, J., *Médecine traditionnelle et toxicologie ouest-sahariennes*. Rabat, Éditions techniques nord-africaines, 1978.
36. al., B.e., J. Mater. Environ. Sci., 2016. 7 (11) p. 4175-4204
37. Bellakhdar, J., et al., *Tissint. Une oasis du Maroc présaharien*. Monographie d'une palmeraie du Moyen Dra. Rabat: Al Birunya, 1992.
38. Benlamdini, N., et al., *Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya)*. Journal of applied biosciences, 2014. 78(1): p. 6771-6787.
39. Mohamed EL HAFIAN, N.B., Houda ELYACOUBI, Lahcen ZIDANE & Atmane and A. Rochdi, *Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida-Outanane* Journal of Applied Biosciences 2014. . 81(30th September 2014.): p. 7198 – 7213.
40. Slimani, I., et al., *Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Zerhoun-Maroc-[Ethnobotanical Survey of medicinal plants used in Zerhoun region-Morocco-]*. International Journal of Innovation and Applied Studies, 2016. 15(4): p. 846.
41. El Azzouzi, F. and L. Zidane, *La flore médicinale traditionnelle de la région de Béni-Mellal (Maroc)*. Journal of applied biosciences, 2015. 91(1): p. 8493–8502.
42. Ghourri, M., L. Zidane, and A. Douira, *Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan-Tan (Maroc saharien)*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 2013. 7(4): p. 1688-1700.
43. Uphof, J.C.T., *Dictionary of economic plants*. Dictionary of economic plants., 1959.
44. H., P., *Herbs cultivation and medicinal uses*. National Institute of Industrial Research, 2000: p. 325.
45. Maier, U.H., H. Gundlach, and M.H. Zenk, *Seven imidazole alkaloids from Lepidium sativum*. Phytochemistry, 1998. 49(6): p. 1791-1795.
46. Chopra R N, N.L.a.C.I.C., *Glossary of Indian Medicinal Plants*., Council of Scientific and Industrial Research, 1956: p. 198.
47. Manohar, D., et al., *Ethnopharmacology of Lepidium sativum Linn (Brassicaceae): a review*. International journal of phytotherapy research, 2012. 2(1): p. 1-7.
48. W.R. Arkroyd, C.G., S.C. Balasubramanian,, *Nutritive Value of Indian Foods and the Planning of Satisfactory Diets*. Indian Council of Medical Research, 1960: p. p.64.
49. Karmakar, A., S. Karmakar, and S. Mukherjee, *Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production*. Bioresource technology, 2010. 101(19): p. 7201-7210.

Référence

50. Billore KV, Y.M., Dennis TJ, Chaudhari BG. , *Database on Medicinal Plants used in Ayurveda*. Research in Ayurveda and Siddha, . Vol.7: p. page: 52..
51. Fleming, T., *PDR for Herbal Medicines*. Medical Economics Company,, 1998(1st ed): p. 933–934..
52. Duke, J.A., *Database of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants*1992: CRC Press.
53. Moser, B.R., et al., *Composition and physical properties of cress (*Lepidium sativum* L.) and field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) oils*. Industrial Crops and Products, 2009. 30(2): p. 199–205.
54. Radwan, H., et al., *Investigation of the glucosinolates of *Lepidium sativum* growing in Egypt and their biological activity*. Res J Med Med Sci, 2007. 2(2): p. 127-132.
55. Kolodziejski, J., M. A, and H. Mionskowski, *PHYSICO-CHEMICAL INVESTIGATIONS ON OIL FROM SEEDS OF GENUS LEPIDIUM L-CRUCIFERAE*. DISSERTATIONES PHARMACEUTICAE ET PHARMACOLOGICAE, 1969. 21(3): p. 235-+.
56. Burghardt, H., et al., *Natural inhibitors of germination and growth, VII synthesis of Ribulosebiphosphate carboxylase in darkness and its inhibition by Coumarin*. Zeitschrift für Naturforschung C, 1994. 49(5-6): p. 321-326.
57. Trease, G. and W. Evans, *Textbook of Pharmacognosy*. (Balliere. Tindall, London, 1983: p. 57-59.
58. R.G. Mali, M.G.M., A.A. Mehta,, J. Pharm. Sci, 2006. 7: p. 85–88.
59. Nayak, P.S., S.D. Upadhyaya, and A. Upadhyaya, *A HPTLC densitometer determination of sinapic acid in chandrasur (*Lepidium sativum*)*. Journal of scientific research, 2009. 1(1): p. 121-127.
60. Wang, L. and C.L. Weller, *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants*. Trends in Food Science & Technology, 2006. 17(6): p. 300-312.
61. Grigonis, D., et al., *Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloe odorata*)*. The Journal of Supercritical Fluids, 2005. 33(3): p. 223-233.
62. Herodež, Š.S., et al., *Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves*. Food chemistry, 2003. 80(2): p. 275-282.
63. Lamarti, A., A. Badoc, and J. CARDE, *Etude chromatographique de l'huile essentielle de la plantule de fenouil amer (*Foeniculum vulgare* Mill.); caractéristiques spectrales (UV, IR, SM) de ses constituants*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1993. 132: p. 73-89.
64. Kamal-Eldin, A. and L.Å. Appelqvist, *The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols*. Lipids, 1996. 31(7): p. 671-701.
65. Eitenmiller, R.R. and J. Lee, *Vitamin E: food chemistry, composition, and analysis*2004: CRC Press.
66. Bramley, P.M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F.J., Manios, Y., Roxborough, H.E., Schuch, W., Sheehy, P.J.A. and Wagner, K.H. . Review: Vitamin E. J. Sci. Food Agric, 2000. 80: p. 913-938.
67. Medicine., I.o., *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoid*. National Academy Press, 2000: p. 506
68. Sen, C.K., et al., *Tocotrienols: the emerging face of natural vitamin E*. Vitamins & Hormones, 2007. 76: p. 203-261.
69. Traber, M.G. and J. Atkinson, *Vitamin E, antioxidant and nothing more*. Free Radical Biology and Medicine, 2007. 43(1): p. 4-15.
70. Niki, E., *Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo*. Free Radical Biology and Medicine, 2010. 49(4): p. 503-515.
71. Seppanen, C.M., Q. Song, and A. Saari Csallany, *The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats, and food systems*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2010. 87(5): p. 469-481.
72. Evrard, J., et al., *Procédés d'obtention et compositions nutritionnelles des huiles de tournesol, olive et colza*. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 2007. 42: p. 13-23.

Référence

73. Morin, O. and X. Pagès-Xatart-Parès, *Huiles et corps gras végétaux: ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel*. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 2012. 19(2): p. 63-75.
74. FRANÇOIS., R., *Les industries des corps gras : biochimie-extraction-raffinagenuisances et réglementation*. technique et documentation-Lavoisier, 1974.
75. .., L.e.L., *Huiles et graisses végétales*. In *biochimie agro-industriel*, 1994.
76. Lucchesi, M.E., et al., *Solvent free microwave extraction of Elletaria cardamomum L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil*. Journal of Food Engineering, 2007. 79(3): p. 1079-1086.
77. Combe, N. and A. Rossignol-Castera, *Vegetable oils and frying*. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 2010. 45(Hors serie 1).
78. ., M.F.e.E.V., *Les lipides*. In : *Biochimie des aliments : diététique du sujet bien portant*, 2001.
79. Harwood, J. and R. Aparicio, *Handbook of Olive Oil: analysis and properties*2000: Springer.
80. Adlouni, A., *L'huile d'argan, de la nutrition à la santé*. Phytothérapie, 2010. 8(2): p. 89-97.
81. gras, I.g.s.l.c., *description et nomenclature. Composition et principale altération des corps gras*, 2002.
82. AFSSA, *Rapport relatif à l'équivalence en substance de l'huile d'argane avec d'autres huiles alimentaires*. 2001.
83. M., H., *Contribution à la valorisation de l'arganier (Argania spinosa (L.) sapotaceae): Etude de la composition chimique de l'huile d'argane en fonction de son mode d'extraction et de son origine de production. Analyse multicritère pour la recherche d'adultération de l'huile d'argane. Etude des composés phénoliques de la pulpe du fruit de l'arganier.*, 2008, Thèse de Doctorat National, Faculté des Sciences, Université Mohammed V-Agdal. .
84. Vara-Ubol, S. and J. Bowers, *Effect of α -tocopherol, β -carotene, and sodium tripolyphosphate on lipid oxidation of refrigerated, cooked ground turkey and ground pork*. Journal of food science, 2001. 66(5): p. 662-667.
85. Hilali, M., et al., *Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition*. Journal of agricultural and food chemistry, 2005. 53(6): p. 2081-2087.
86. Charrouf, Z. and D. Guillaume, *Phenols and polyphenols from Argania spinosa*. Am J Food Technol, 2007. 2(7): p. 679-83.
87. Rahmani, M., *Composition chimique de l'huile d'argane «vierge»*. Cahiers Agricultures, 2005. 14(5): p. 461-465 (1).
88. Reboul, E., et al., *Effect of the main dietary antioxidants (carotenoids, γ -tocopherol, polyphenols, and vitamin C) on α -tocopherol absorption*. European journal of clinical nutrition, 2007. 61(10): p. 1167.
89. Piironen, V., et al., *Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000. 80(7): p. 939-966.
90. Hilali, M., et al., *Detection of argan oil adulteration using quantitative campesterol GC-analysis*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2007. 84(8): p. 761-764.
91. Camciuc, M., G. Vilarem, and A. Gaset, *Le gombo: Abelmoschus esculentus (L.) Moench, une source possible de phospholipides*. OCL. Oléagineux, corps gras, lipides, 1997. 4(5): p. 389-392.
92. Velasco, J. and C. Dobarganes, *Oxidative stability of virgin olive oil*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2002. 104(9-10): p. 661-676.
93. Judde, A., et al., *Antioxidant effect of soy lecithins on vegetable oil stability and their synergism with tocopherols*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2003. 80(12): p. 1209-1215.
94. Chapman, D., E. Pfannkoch, and R. Kupper, *Separation and characterization of pigments from bleached and deodorized canola oil*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1994. 71(4): p. 401-407.

Référence

95. Traoré, M., *Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au mali*, 2006, Thèse de Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto ...
96. Khiati, M., *Guide des maladies infectieuses et parasitaires*. OPU, Alger, 1998.
97. De Billerbeck, V.-G., *Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques*. *Phytothérapie*, 2007. 5(5): p. 249-253.
98. Butler, M.S. and A.D. Buss, *Natural products—the future scaffolds for novel antibiotics?* *Biochemical pharmacology*, 2006. 71(7): p. 919-929.
99. Tepe, B., et al., *In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of Thymus eigi M. Zohary et PH Davis*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2004. 52(5): p. 1132-1137.
100. Burt, S., *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. *International journal of food microbiology*, 2004. 94(3): p. 223-253.
101. Dorman, H. and S.G. Deans, *Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils*. *Journal of applied microbiology*, 2000. 88(2): p. 308-316.
102. A., Z., *Aromathérapie;Nutranews*. FONDATION LIBRE CHOIX, 2006: p. 2-16.
103. Malecky, M., *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins*, 2008, Paris, AgroParisTech.
104. Kunle, O., et al., *Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from Lippia multiflora leaf extract*. *Phytomedicine*, 2003. 10(1): p. 59-61.
105. Baser, K., et al., *Composition of the Essential Oils of Thymus pectinatus Fisch. et Mey. var. pectinatus at Different Stages of Vegetation*. *Journal of Essential Oil Research*, 1999. 11(3): p. 333-334.
106. Cox, S.D., et al., *The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil)*. *Journal of applied microbiology*, 2000. 88(1): p. 170-175.
107. Abdesselam Z., *Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré*. *Nutra News*, 2006: p. 6-16.
108. Pibiri, M.-C., *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*, 2006, EPFL.
109. Razakarivony A.A., A.B.R.B., . . , *Etude chimique de l'huileessentielle des feuilles de Callistemon rigidium*, 2009. p. 28.
110. Wilkinson, J.M., *Methods for testing the antimicrobial activity of extracts*. *Modern Phytomedicine*, 2007. 34.
111. al, D.S.e., *Evaluation des activités antimicrobiennes et antiradicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire*. *Euro Journal of Scientific Research*, 2010 40 (2) p. 307-317. .
112. M., K., *Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne*, 2008, Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine, Algérie. . p. 99.
113. Del-Vechio-Vieira, G., et al., *Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Ageratum fastigiatum (Asteraceae)*. *Records of Natural Products*, 2009. 3(1).
114. A., M.Z.F., *pouvoir fongistatique de l'huile essentielle d'une plante aromatique sur la croissance des champignons*. 2007.
115. Zarrin M., A.N.a.N.B.S., *In vitro antifungal activity of sature jakhuz estanica jamzad against Cryptococcus neoformans*. 2010: p. 880-882.
116. Aleksic, V. and P. Knezevic, *Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of Myrtus communis L*. *Microbiological research*, 2014. 169(4): p. 240-254.
117. Guil-Guerrero, J., et al., *Antimicrobial activity of plant-food by-products: A review focusing on the tropics*. *Livestock Science*, 2016. 189: p. 32-49.
118. Yamaguchi, M.U., et al., *Antifungal effects of ellagitannin isolated from leaves of Ocotea odorifera (Lauraceae)*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2011. 99(3): p. 507-514.
119. Daglia, M., *Polyphenols as antimicrobial agents*. *Current opinion in biotechnology*, 2012. 23(2): p. 174-181.
120. Wada, L. and B. Ou, *Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2002. 50(12): p. 3495-3500.

Référence

121. Jaccot B., C., *Nutrition humaine*. MASSON, 2003: p. 311.
122. Halliwell, B. and J. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine.*, edn 3.(Oxford University Press: Oxford, UK). 1999.
123. Pincemail, J. and J. Defraigne, *Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène*. Service de Chirurgie Cardio-vasculaire, Pro biox SA. Sart Tilman, 2004. 4000.
124. DESMIER, T., *LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS*, 2016, de limoges. p. 88.
125. Haleng, J., et al., *Le stress oxydant*. Revue médicale de Liège, 2007. 62(10): p. 628-38.
126. Prior, R.L., X. Wu, and K. Schaich, *Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements*. Journal of agricultural and food chemistry, 2005. 53(10): p. 4290-4302.
127. Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. LWT-Food science and Technology, 1995. 28(1): p. 25-30.
128. Awika, J.M., et al., *Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (Sorghum bicolor) and sorghum products*. Journal of agricultural and food chemistry, 2003. 51(23): p. 6657-6662.
129. Benzie, I.F. and J.J. Strain, *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay*. Analytical biochemistry, 1996. 239(1): p. 70-76.
130. Kansole, M.M.R., *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso cas de Leucasmartinicansis (Jacquin) R. Brown, Hoslundiaopposstavahl et Orthosiphon pallidus royale ex benth*, 2009.
131. Pincemail, J., et al., *Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante*. Nutrition clinique et métabolisme, 2002. 16(4): p. 233-239.
132. Favier, A., *Le stress oxydant*. L'actualité chimique, 2003. 108.
133. Bartosz, G., *Generation of reactive oxygen species in biological systems*. Comments on Toxicology, 2003. 9(1): p. 5-21.
134. Frankel, E.N. and A.S. Meyer, *The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000. 80(13): p. 1925-1941.
135. Miller, N.J., et al., *Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls*. FEBS letters, 1996. 384(3): p. 240-242.
136. Barlow, S.M., *Toxicological aspects of antioxidants used as food additives*, in *Food antioxidants 1990*, Springer. p. 253-307.
137. Antwerpen, P., *Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myelo peroxydase/peroxyde d'hydrogène/chlorure*. Doctorat en Science Pharmaceutiques. Bruxelles, Belgique, 2006.
138. Goudable, J. and A. Favier, *Radicaux libres oxygénés et antioxydants*. Nutrition clinique et métabolisme, 1997. 11(2): p. 115-120.
139. Lindau-Shepard, B.A. and J.B. Shaffer, *Expression of human catalase in acatalasemic murine SV-B2 cells confers protection from oxidative damage*. Free Radical Biology and Medicine, 1993. 15(6): p. 581-588.
140. Marfak, A., *Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides*, 2003, Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie, Université de Limoges.
141. Öhrvall, M., B. Vessby, and G. Sundlöf, *Gamma, but not alpha, tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients*. Journal of internal medicine, 1996. 239(2): p. 111-117.
142. Goussard, J.P., *Les radicaux libres et antioxydants*. 1999: p. 7-11.
143. Packer, L., H.J. Tritschler, and K. Wessel, *Neuroprotection by the metabolic antioxidant α -lipoic acid*. Free Radical Biology and Medicine, 1997. 22(1-2): p. 359-378.
144. Curtay, J. and J. Robin, *Intérêt des complexes antioxydants*. Nutrithérapie Info, 2000: p. 1-4.

Référence

145. Allard, J.P., et al., *Effects of β -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans*. The American journal of clinical nutrition, 1994. 59(4): p. 884-890.
146. Biesalski, H.K., et al., *Effects of controlled exposure of sunlight on plasma and skin levels of β -carotene*. Free radical research, 1996. 24(3): p. 215-224.
147. Stamler, J.S. and A. Slivka, *Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease*. Nutrition Reviews, 1996. 54(1): p. 1-30.
148. Gérard-Monnier, D. and J. Chaudiere, *Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion*. Pathologie et biologie, 1996. 44(1): p. 77-85.
149. Garait, B., *Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®*, 2006.
150. Boizot, N. and J.-P. Charpentier, *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier*. Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial, 2006: p. 79-82.
151. Wang, L., et al., *Antioxidant effect of methanol extracts from lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.)*. Journal of food and drug Analysis, 2003. 11(1): p. 60-66.
152. Yu, R., S. Mandlekar, and A.-N.T. Kong, *Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: Induction of apoptosis through direct release of cytochrome c*. Molecular pharmacology, 2000. 58(2): p. 431-437.
153. Ito, N., S. Fukushima, and H. Tsuda, *Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants*. CRC Critical reviews in Toxicology, 1985. 15(2): p. 109-150.
154. Cuendet, M., *Recherche de nouveaux composés capteur de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: *Fragraea blumei* (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude: *Bartsia alpina* (Scrophulariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et *Campanula ba**, 1999, Université de Lausanne, Faculté des sciences.
155. Evans, R. and G. Reynhout, *Alternates to synthetic antioxidants*, in *Developments in Food Science* 1992, Elsevier. p. 27-42.
156. Milane, H., *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques*, 2004, Strasbourg 1.
157. Barboni, T., *Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie*, 2006.
158. Ribereau, G.P.D., *Les composés phénoliques des végétaux*, . 1968: p. 254.
159. Igor Passi, L., *Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae)*, 2002, Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.
160. Guingard, J., *Biochimie végétale*, Ed. Lavoisier, Paris, 1996: p. 175-192.
161. Bessas, A., L. Benmoussa, and M. Kerarma, *Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien*. Diplôme d'Ingénieur d'Etat en biologie, faculté des sciences, Université Djillah Liabes, Sidi Bel Abbes, Algérie, 2008: p. 81.
162. Bruneton, J., *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. English. 1999.
163. Hanhineva, K., et al., *Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism*. International journal of molecular sciences, 2010. 11(4): p. 1365-1402.
164. Narayana, K.R., et al., *Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential*. Indian Journal of Pharmacology, 2001. 33(1): p. 2-16.
165. Harborne, A., *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis* 1998: springer science & business media.
166. Seyoum, A., K. Asres, and F.K. El-Fiky, *Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids*. Phytochemistry, 2006. 67(18): p. 2058-2070.
167. Middleton, E., C. Kandaswami, and T.C. Theoharides, *The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer*. Pharmacological reviews, 2000. 52(4): p. 673-751.
168. Nijveldt, R.J., et al., *Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications*. The American journal of clinical nutrition, 2001. 74(4): p. 418-425.

Référence

169. Hennebelle, T., S. Sahpaz, and F. Bailleul, *Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif*. *Phytothérapie*, 2004. 2(1): p. 3-6.
170. Martin, S. and R. Andriantsitohaina. *Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium*. in *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. 2002. Elsevier.
171. Rock, E., *Stress oxydant, micronutriments et santé*. Inra–CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments, 2003. 63122: p. 37-42.
172. Cowan, M.M., *Plant products as antimicrobial agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 1999. 12(4): p. 564-582.
173. Rangkadilok, N., et al., *Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract*. *Food and Chemical Toxicology*, 2007. 45(2): p. 328-336.
174. Lee, K.W., et al., *Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005. 53(6): p. 1990-1995.
175. Chung, K.-T., et al., *Tannins and human health: a review*. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1998. 38(6): p. 421-464.
176. Yoshida, H., et al., *Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein*. *Biochemical pharmacology*, 1999. 58(11): p. 1695-1703.
177. Fujioka, T., et al., *Antiproliferative constituents from umbelliferae plants. V. A new furanocoumarin and falcarindiol furanocoumarin ethers from the root of Angelica japonica*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 1999. 47(1): p. 96-100.
178. Chen, Y.-F., H.-Y. Tsai, and T.-S. Wu, *Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of Angelica pubescens*. *Planta medica*, 1995. 61(01): p. 2-8.
179. Andersson, C.-M., A. Hallberg, and T. Högberg, *Advances in the development of pharmaceutical antioxidants*, in *Advances in Drug Research* 1996, Elsevier. p. 65-180.
180. Resch, M.S., A ; Chem, Z. L ; et Bauer, R. , *5-Lipoxygenase and cyclooxygenase- 1 inhibitory active compounds from Atractylodes lancea*. *J. Nat. Prod*, 1998. 61: p. 347-350.
181. YOSHIKAWA, M., et al., *Development of bioactive functions in Hydrangeae Dulcis Folium. III. On the antiallergic and antimicrobial principles of Hydrangeae Dulcis Folium.(1). Thunberginols A, B, and F*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 1994. 42(11): p. 2225-2230.
182. Kayser, O. and H. Kolodziej, *Antibacterial activity of extracts and constituents of Pelargonium sidoides and Pelargonium reniforme*. *Planta medica*, 1997. 63(06): p. 508-510.
183. Lesley B., *Plantes médicinales et aromatiques*. Lavoisier. Paris, 1996: p. 58-61.
184. Gonzalez, A.G.E.-B., A., *Coumarins*. *Nat. Prod. Reprod*, 1997. 14: p. 465-475.
185. Blois, M.S., *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical*. *nature*, 1958. 181(4617): p. 1199-1200.
186. Molyneux, P., *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 2004. 26(2): p. 211-219.
187. Miller, N.J. and C.A. Rice-Evans, *The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink*. *Food chemistry*, 1997. 60(3): p. 331-337.
188. Arnao, M.B., A. Cano, and M. Acosta, *The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity*. *Food chemistry*, 2001. 73(2): p. 239-244.
189. Re, R., et al., *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999. 26(9-10): p. 1231-1237.
190. Lien, E.J., et al., *Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants*. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999. 26(3-4): p. 285-294.
191. Amarowicz, R., et al., *Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies*. *Food chemistry*, 2004. 84(4): p. 551-562.
192. Levy, R., *Contrôle d'épaisseur, dans les Techniques de l'Ingénieur* 2002.
193. Conference, U.N., *Trade and Development*, 2005.
194. Landolt, D., *Corrosion et chimie de surface des métaux*, Alden, 1993, Oxford.

195. Béranger, G. and H. Mazille, *Corrosion et anticorrosion, pratique industrielle*. Hermès-Lavoisier, 2002.
196. Rozenfel'd, I.L.v., *Corrosion inhibitors*1981: McGraw-Hill Companies.
197. Schaschl, E., *Corrosion Inhibitors*. National Association of Corrosion Engineers, 1973. 28.
198. J.G.N. Thomas, *5th European Symposium on Corrosion Inhibitors*. 1980: p. 453.
199. Gabrielli, C. and M. Keddam, *RECENT ADVANCES IN MEASUREMENT OF ELECTROCHEMICAL IMPEDANCE IN SINUSOIDAL SYSTEM*. *Electrochimica Acta*, 1974. 19(7): p. 355-362.
200. Bonnel, A., et al., *Corrosion study of a carbon steel in neutral chloride solutions by impedance techniques*. *Journal of the Electrochemical Society*, 1983. 130(4): p. 753-761.
201. Ribéreau-Gayon, J., et al., *Traité d'oenologie: sciences et techniques du vin*. 1972.
202. India, T.W.o., *a dictionary of indian raw materials andIndustrial products*, in *Council of Scientific and Industrial Research Publication*,1956. p. 276–277.
203. T., C., *Calcutta: Shree Gauranga Press pvt*. Flora of the presidency of Bombay, 1997. Vol. 1.
204. Khory, N. and N. Katrak, *Materia medica of India and their therapeutics 380*. BDH Printers, New Delhi, 1999.
205. Anonymous. *Ayurvedic Pharmacopoeia of India, The drug controller of India, M.o.h.a.f.w.d.o.l.s.o.m.a. homeopathy*,; Editor 2001. p. 26.3.
206. Schultze-Motel, J., et al., *Taxonomy and evolution of cultivated plants: Literature review 1984/1985*. *Die Kulturpflanze*, 1986. 34(2): p. 335-347.
207. Wikipedia.
208. M., L.G.H., *An introduction of the plant Taxonomy*. 1959.
209. Kshitij Chauhan, K.N., M. G. , *Chauhan Pharmacognostical Evaluation of Seeds of *Lepidium sativum* Linn*. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 2012. 3(3): p. 627-631.
210. Johansen, D.A., *Plant microtechnique*1940: McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530p.
211. Hamia, C., et al., *Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressum**. *Ḥawliyyāt al-'Ulūm wa-al-Tiknūljūyā*, 2014. 281(1766): p. 1-14.
212. AFNOR, "*Huiles essentielles : recueil de normes françaises*", in *Association française de normalisation Paris*1986. p. 139-140.
213. Jahouach, W., et al., *Alteration of chemical composition and the oxidative stability of bleached Pomace– olive oil on activated clays*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006. 54(19): p. 7137-7143.
214. Ulberth, F. and H. Reich, *Gas chromatographic determination of cholesterol in processed foods*. *Food chemistry*, 1992. 43(5): p. 387-391.
215. Ronchetti, F., et al., *A new alkaloid from *rauwolfia vomitoria**. *Phytochemistry*, 1971. 10(6): p. 1385-1388.
216. Harborne, J.B., *A guide to modern techniques of plant analysis*1973: Chapman and Hall.
217. Hegnauer, R., *Chemotaxonomie der pflanzen VI*. Basel und Stuttgart: Birkhäuser Verlag, 1973: p. 84-130.
218. H., W., Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 1983.
219. Békro Y. A., B.J.A.M., Boua B. B., Tra B. F. H.and Ehilé E. E., in *Rev. Sci. Nat*2007. p. 217-225.
220. Singleton, V.L. and J.A. Rossi, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. *American journal of Enology and Viticulture*, 1965. 16(3): p. 144-158.
221. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., , "*Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds*". *Food Chemistry*, 2006. 97: p. 654–660.
222. Cavallo J.D, H.C., C. Chadia, P. Choutet, P.Courvalin, H.Daberrat, H.Druegon, L.Dubereuil, F.Goldstein, V.Jarvalier, Q.Leclerc, MH.Nicolas-Chamoine, A.Philipon, C.Quentir, B.Rouveix, J. Sirot, C.J. Soussy, , in *Société française de microbiologie*2006.

Référence

223. Omenka, C. and J. Osuoha, *Antimicrobial potency of Grapefruit seed extract on five selected pathogens*. Nigerian Journal of Microbiology, 2000. 14(2): p. 39-42.
224. Wu, H., *Isolation and characterization of natural products from ginger and Allium ursinum*, 2007, Rutgers University-Graduate School-New Brunswick.
225. Sharififar, F., et al., *In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora Boiss*. Food control, 2007. 18(7): p. 800-805.
226. Huang, B., et al., *Extracts of Halenia elliptica exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo*. Food and Chemical Toxicology, 2011. 49(1): p. 185-190.
227. Horrobin, D., *Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid*. Progress in lipid research, 1992. 31(2): p. 163-194.
228. Oyaizu, M., *Studies on products of browning reaction*. The Japanese journal of nutrition and dietetics, 1986. 44(6): p. 307-315.
229. Patterson, H.B.W., *Handling and storage of oilseeds, oils, fats, and meal*1989: Sole distributor in the USA and Canada, Elsevier Science Pub. Co.
230. Fomin M.N., Z.K.A., *Methods of Corrosion Testing of Metals*. 1986: p. 11-18.
231. Bentiss, F., et al., *Electrochemical study of substituted triazoles adsorption on mild steel*. Industrial & engineering chemistry research, 2000. 39(10): p. 3732-3736.
232. Paris, R. and H. Moyse-Mignon, *Précis de matière médicale: par RR Paris et H. Moyse*1965: Masson.
233. Diwakar, B.T., et al., *Physicochemical properties of garden cress (Lepidium sativum L.) seed oil*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2010. 87(5): p. 539-548.
234. Belkhiri, F., *Activité antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales: salvia verbenaca et Lepidium sativum*, 2018.
235. Lanza, C., C. Russo, and F. Tomaselli, *Relationship between geographical origin and fatty acid composition of extra-virgin olive oils produced in three areas of Eastern Sicily*. Italian Journal of Food Science (Italy), 1998.
236. Gokavi, S.S., N.G. Malleshi, and M. Guo, *Chemical composition of garden cress (Lepidium sativum) seeds and its fractions and use of bran as a functional ingredient*. Plant foods for human nutrition, 2004. 59(3): p. 105-111.
237. Temime, S.B., et al., *Sterolic composition of Chétoui virgin olive oil: Influence of geographical origin*. Food chemistry, 2008. 110(2): p. 368-374.
238. Zia-Ul-Haq, M., et al., *Compositional study and antioxidant potential of Ipomoea hederacea Jacq. and Lepidium sativum L. seeds*. Molecules, 2012. 17(9): p. 10306-10321.
239. Karumi, Y., P. Onyeyili, and V. Ogugbuaja, *Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract*. J Med Sci, 2004. 4(3): p. 179-182.
240. Sharma, R.K., K. Vyas, and H. Manda, *Evaluation of antifungal effect on ethanolic extract of Lepidium sativum L. seed*. Int J Phytopharmacol, 2012. 3(2): p. 117-120.
241. Berehe, S.G. and A.D. Boru, *Phytochemical screening and antimicrobial activities of crude extract of Lepidium sativum seeds grown in Ethiopia*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2014. 5(10): p. 4182.
242. Abuelgasim, A.I., Nuha, H. S. and Mohammed, A. H., , Research Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2008. 3: p. 20-23.
243. Yadav, Y.C., Srivastava, D. N., Saini, V., Seth, A.K., Ghelani, T.K., Malik, A. and Kumar, S.,, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2011. 1: p. 965-974.
244. Jackson, D. and P. Lombard, *Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality-a review*. American journal of Enology and Viticulture, 1993. 44(4): p. 409-430.
245. Das, M. and A. Pal, *In vitro regeneration of Bambusa balcooa Roxb.: factors affecting changes of morphogenetic competence in the axillary buds*. Plant cell, tissue and organ culture, 2005. 81(1): p. 109-112.

Référence

246. de Abreu, I.N. and P. Mazzafera, *Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of Hypericum brasiliense Choisy*. Plant Physiology and Biochemistry, 2005. 43(3): p. 241-248.
247. Pankey, G. and L. Sabath, *Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections*. Clinical infectious diseases, 2004. 38(6): p. 864-870.
248. Harikrishna D, A.V.N.A., M.C Prabhakar., Indian J Pharmacol, 2004. 36 (4): p. 244-250.
249. Ahmad, I. and F. Aqil, *In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ESBL-producing multidrug-resistant enteric bacteria*. Microbiological research, 2007. 162(3): p. 264-275.
250. Akrayi, H.F. and J.D. Tawfeeq, *Antibacterial activity of Lepidium sativum and Allium porrum extracts and juices against some gram positive and gram negative bacteria*. Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences, 2012. 109(411): p. 1-7.
251. DAYANAND D KAMBLE, P.B.D., International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2012 Vol 4,(Issue 3).
252. Dapkevicius, A., et al., *Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998. 77(1): p. 140-146.
253. Ferrari, J., *Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: "Gnidia involucrata" Steud. ex A. Rich*, 2002, Université de Lausanne, Faculté des sciences.
254. Singh, A., et al., *Inhibition effect of environmentally benign Karanj (Pongamia pinnata) seed extract on corrosion of mild steel in hydrochloric acid solution*. Journal of Solid State Electrochemistry, 2011. 15(6): p. 1087-1097.
255. Bastidas, J., et al., *Copper corrosion inhibition by triphenylmethane derivatives in sulphuric acid media*. Corrosion Science, 2003. 45(2): p. 427-449.
256. Bribri, A.E., et al., *Temperature effects on the corrosion inhibition of carbon steel in 1N H3PO4 solution by methanolic extract of Euphorbia Falcata*. L. Moroccan Journal of Chemistry, 2015. 3(2): p. 3-2 (2015) 286-297.
257. Abdel-Gaber, A., B. Abd-El-Nabey, and M. Saadawy, *The role of acid anion on the inhibition of the acidic corrosion of steel by lupine extract*. Corrosion Science, 2009. 51(5): p. 1038-1042.
258. Ferreira, E., et al., *Evaluation of the inhibitor effect of L-ascorbic acid on the corrosion of mild steel*. Materials Chemistry and Physics, 2004. 83(1): p. 129-134.
259. Saleh, R., A. Ismail, and A. El Hosary, *Corrosion Inhibition by Naturally Occurring Substances: VII. The effect of aqueous extracts of some leaves and fruit-peels on the corrosion of steel, Al, Zn and Cu in acids*. British corrosion journal, 1982. 17(3): p. 131-135.
260. Afia, L., et al., *Anti-corrosive properties of Argan oil on C38 steel in molar HCl solution*. Journal of Saudi Chemical Society, 2014. 18(1): p. 19-25.
261. Chetouani, A., B. Hammouti, and M. Benkaddour, *Corrosion inhibition of iron in hydrochloric acid solution by jojoba oil*. Pigment & resin technology, 2004. 33(1): p. 26-31.
262. Fadil, M., et al., *Étude ethnobotanique des plantes exploitées par les coopératives et les associations de la région Meknès-Tafilalet au Maroc*. Phytothérapie, 2015. 13(1): p. 19-30.
263. Shabnum, S. and M. Wagay, *Micropropagation of different species of thymus*. Journal of Research & Development, 2011. 11: p. 71-81.
264. Martinez, S. and I. Stern, *Thermodynamic characterization of metal dissolution and inhibitor adsorption processes in the low carbon steel/mimosa tannin/sulfuric acid system*. Applied Surface Science, 2002. 199(1-4): p. 83-89.
265. Benahmed, M., et al., *Inhibition of the corrosion of carbon steel in acid solution by the extract of Limonium thouinii (Plumbaginaceae)*. Advances in Environmental Biology, 2012: p. 4052-4057.

Référence

266. Banerjee, S., V. Srivastava, and M. Singh, *Chemically modified natural polysaccharide as green corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium*. Corrosion Science, 2012. 59: p. 35-41.
267. Lebrini, M., et al., *Experimental and theoretical study for corrosion inhibition of mild steel in normal hydrochloric acid solution by some new macrocyclic polyether compounds*. Corrosion Science, 2007. 49(5): p. 2254-2269.
268. Boumhara, K., et al., *Use of artemisia mesatlantica essential oil as green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M hydrochloric acid solution*. Int. J. Electrochem. Sci, 2014. 9: p. 1187-1206.
269. da Silva, A.B., E. D'Elia, and J.A.d.C.P. Gomes, *Carbon steel corrosion inhibition in hydrochloric acid solution using a reduced Schiff base of ethylenediamine*. Corrosion Science, 2010. 52(3): p. 788-793.
270. Ekanem, U., et al., *Inhibition of mild steel corrosion in HCl using pineapple leaves (Ananas comosus L.) extract*. Journal of materials science, 2010. 45(20): p. 5558-5566.
271. Achary, G., et al., *The corrosion inhibition of mild steel by 3-formyl-8-hydroxy quinoline in hydrochloric acid medium*. Materials Chemistry and Physics, 2008. 107(1): p. 44-50.
272. Ali, S.A., M. Saeed, and S. Rahman, *The isoxazolidines: a new class of corrosion inhibitors of mild steel in acidic medium*. Corrosion Science, 2003. 45(2): p. 253-266.
273. Behpour, M., et al., *Investigation of some Schiff base compounds containing disulfide bond as HCl corrosion inhibitors for mild steel*. Corrosion Science, 2010. 52(12): p. 4046-4057.
274. Faustin, M., et al., *Corrosion inhibition of C38 steel by alkaloids extract of Geissospermum laeve in 1 M hydrochloric acid: electrochemical and phytochemical studies*. Corrosion Science, 2015. 92: p. 287-300.
275. Tang, L., G. Mu, and G. Liu, *The effect of neutral red on the corrosion inhibition of cold rolled steel in 1.0 M hydrochloric acid*. Corrosion Science, 2003. 45(10): p. 2251-2262.
276. Thomas, J.M., W.J. Thomas, and H. Salzberg, *Introduction to the principles of heterogeneous catalysis*. Journal of the Electrochemical Society, 1967. 114(11): p. 279C-279C.
277. Lyberatos, G. and L. Kobotiatis, *Inhibition of aluminum 7075 alloy corrosion by the concerted action of nitrate and oxalate salts*. Corrosion, 1991. 47(11): p. 820-824.
278. Hassan, H.H., *Inhibition of mild steel corrosion in hydrochloric acid solution by triazole derivatives: Part II: Time and temperature effects and thermodynamic treatments*. Electrochimica Acta, 2007. 53(4): p. 1722-1730.
279. Gomma, G.K. and M.H. Wahdan, *Schiff bases as corrosion inhibitors for aluminium in hydrochloric acid solution*. Materials Chemistry and Physics, 1995. 39(3): p. 209-213.
280. Yurt, A., et al., *Investigation on some Schiff bases as HCl corrosion inhibitors for carbon steel*. Materials Chemistry and Physics, 2004. 85(2-3): p. 420-426.
281. Boudalia, M., et al., *Essassi El. M., Elmsellem H. Mor. J. Chem*, 2014. 2: p. 97.
282. Singh, A.K. and M. Quraishi, *Adsorption properties and inhibition of mild steel corrosion in hydrochloric acid solution by ceftobiprole*. Journal of Applied Electrochemistry, 2011. 41(1): p. 7-18.
283. Zheng, X., et al., *Experimental and theoretical study on the corrosion inhibition of mild steel by 1-octyl-3-methylimidazolium L-prolinate in sulfuric acid solution*. Industrial & engineering chemistry research, 2014. 53(42): p. 16349-16358.