

N° d'ordre : 3954

THÈSE

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

Centre de Recherche : Centre des Sciences des Matériaux
Structure de Recherche : Laboratoire de Matériaux, Nanotechnologies et Environnement
Discipline : Chimie
Spécialité : Chimie analytique et des substances naturelles

Présentée et Soutenue le : **18 / 07 / 2024**

par :

Ayoub NAJEM

Valorisation de la biomasse de Citrus Reticulata: Identification chromatographique, spectroscopique et évaluation des activités biologiques, et anticorrosion

Devant le JURY :

Abdelkbir BELLAOUCHOU	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Président
Miloudia SLAOUI	PH, École supérieure de technologie, Université Mohammed V de Rabat	Examinatrice/Rapporteuse
Amar HABSAOUI	PH, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail Kénitra	Examineur/Rapporteur
Hicham HARHAR	PH, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Examineur/Rapporteur
Hatem Magdy Abdel-Moneim Amin	PES, Faculté de chimie et de biochimie, Université de la Ruhr Bochum, Allemagne	Examineur
Maria BOUDALIA	PH, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Encadrante

Année Universitaire : 2023 - 2024

Dédicace

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À MA MÈRE ET MON PÈRE, QUI ONT TANT SACRIFIÉ POUR MOI DEPUIS MA NAISSANCE, QUI M'ONT SOUTENU DANS CHAQUE ÉTAPE DE MA VIE ET QUI ONT TOUJOURS TOUT FAIT POUR QUE JE SOIS ÉPANOUI ET HEUREUX.

JE LE DÉDIE ÉGALEMENT À MES CHÈRES SŒURS ET MON CHER FRÈRE, QUI ONT ÉTÉ UNE SOURCE INÉPUISABLE DE SOUTIEN ET DE MOTIVATION. LEUR AMOUR ET LEURS ENCOURAGEMENTS M'ONT TOUJOURS POUSSÉ À PERSÉVÉRER ET À NE JAMAIS ABANDONNER, MÊME DANS LES MOMENTS LES PLUS DIFFICILES.

À TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE, POUR LEUR AMOUR INCONDITIONNEL, LEUR SOUTIEN CONSTANT ET LEUR PRÉSENCE RASSURANTE. VOUS AVEZ TOUS JOUÉ UN RÔLE CRUCIAL DANS MON PARCOURS, ET JE VOUS EN SUIS PROFONDÉMENT RECONNAISSANT.

À TOUS MES AMIS ET MES COLLÈGUES, QUI M'ONT ACCOMPAGNÉ TOUT AU LONG DE MES ÉTUDES. VOTRE CAMARADERIE, VOS ENCOURAGEMENTS ET VOTRE SOUTIEN ONT ÉTÉ DES ÉLÉMENTS ESSENTIELS DANS MON CHEMINEMENT. MERCI D'AVOIR ÉTÉ LÀ POUR MOI, DANS LES BONS COMME DANS LES MAUVAIS MOMENTS.

ET À TOUTES LES PERSONNES QUE J'AIME ET QUI M'AIMENT, VOTRE AMOUR ET VOTRE PRÉSENCE ONT ÉTÉ UNE SOURCE DE RÉCONFORT ET DE JOIE INESTIMABLE. VOUS AVEZ RENDU CE VOYAGE BEAUCOUP PLUS AGRÉABLE ET SIGNIFICATIF.

JE VOUS SOUHAITE À TOUS UNE VIE REMPLIE DE BONHEUR ET DE SUCCÈS, ET QUE DIEU, LE TOUT-PUISSANT, VOUS PROTÈGE ET VOUS GARDE.

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Allah pour Sa grâce et Ses bénédictions qui m'ont soutenu et m'ont aidé à accomplir ce travail avec succès. Je remercie également vivement le directeur de la structure, le Professeur **Abdelkbir BELLAOUCHOU**.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire des Matériaux, Nanotechnologie et Environnement (LMNE) de la Faculté des Sciences de Rabat en collaboration avec l'Institut de Pharmacognosie, Centre d'Excellence Interdisciplinaire, Université des Sciences Pharmaceutiques, SZTE, Hongrie, sous la direction de Madame le Professeur **Maria BOUDALIA**.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude envers ma directrice de thèse, Madame **Maria BOUDALIA**, Professeur Habilité à la Faculté des Sciences de Rabat. Ses conseils précieux et sa disponibilité, malgré ses multiples responsabilités, ont été essentiels à la réussite de ce travail. Sa compétence et sa rigueur scientifique m'ont apporté un enseignement précieux.

Je souhaite exprimer ma gratitude envers Mr. **Abdelkbir BELLAOUCHOU**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat. Ses conseils précieux, ses qualités pédagogiques et scientifiques, ainsi que son soutien constant malgré ses multiples responsabilités, ont été essentiels pour la réalisation de ma thèse.

Je remercie Madame **Miloudia SLAOU**, Professeur Habilité à l'École Supérieure de Technologie, Université Mohammed V de Rabat, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de juger ce travail en tant que rapporteuse. Je lui suis profondément reconnaissant pour la disponibilité dont elle a fait preuve lors de l'élaboration de ce travail.

Je remercie Mr. **Amar HABSAOUI**, Professeur Habilité à la Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail de Kénitra, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger ce travail en tant que rapporteur. Je lui suis profondément reconnaissant pour la disponibilité dont il a fait preuve lors de l'élaboration de ce travail.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance à Mr. **Hicham HARHAR**, Professeur Habilité à la Faculté des Sciences de Rabat, qui m'a fait le grand honneur de participer en tant que rapporteur de cette thèse. Qu'il soit assuré de mes sentiments de respect et de haute considération.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Mr. **Hatem Magdy Abdel-Moneim Amin**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté de Chimie et de Biochimie, Université de

la Ruhr à Bochum, Allemagne, d'avoir accepté avec bienveillance de faire partie de mon jury de thèse en tant qu'examineur. Sa grande sympathie, ses commentaires constructifs et ses suggestions ont été d'une aide précieuse dans la finalisation de ce travail.

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mr. **Abdelhak Hakiki** et Madame **Mahjouba Mosaddak**, anciens professeurs de l'enseignement supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat. Leur précieuse guidance et leurs encouragements ont été déterminants pour m'ouvrir les yeux et me lancer dans cette thèse de doctorat.*

*Je suis reconnaissant envers le Professeur **Attila Hunyadi** et le Professeur **Judit Hohmann** de l'Institut de Pharmacognosie, Centre d'Excellence Interdisciplinaire, Université des Sciences Pharmaceutiques, SZTE, Hongrie, de m'avoir accueillie dans leur laboratoire pendant une année et de m'avoir mis à disposition tout le matériel (HPLC, NMR, etc.) nécessaire pour accomplir ce travail.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude à Mr. **Ádám Golcs**, Professeur Assistant à l'Université Semmelweis et chef de projet chez X-Chem, pour ses instructions et ses conseils en synthèse organique au cours de mon année de travail chez X-Chem.*

Ma gratitude envers tous mes collègues du laboratoire LMNE, pour leur soutien, leur accessibilité et leur aide précieuse. Je tiens également à remercier mes amis chercheurs, Gábor Girst et Kornél Szőri du laboratoire de pharmacognosie SZTE.

Je tiens à remercier chaleureusement toute ma famille, et plus particulièrement mes parents, mes sœurs, mon frère ainsi que mes amis de m'avoir soutenu pendant toutes ces années et de m'avoir donné la force d'atteindre cet objectif.

Résumé

Ce mémoire explore le potentiel pharmaceutique des métabolites secondaires extraits des déchets de *Citrus reticulata*. Les composés volatils, extraits par hydrodistillation (rendement de 2,13%), sont principalement constitués de d-limonène (82%). Les composés non volatils ont été extraits par une série d'élution en utilisant : hexane, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol. La fraction de chloroforme a été sélectionnée et purifiée par HPLC-PDA et Prep-HPLC, isolant cinq métabolites, dont NOB et HEM prédominants. L'activité antioxydante, évaluée par les tests DPPH, ABTS et FRAP, a montré une capacité significative de 2,04 mmol. L'efficacité antibactérienne, mesurée par la méthode de dilution sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* a révélé une concentration minimale inhibitrice de 12,5 µg/mL. En prévention de la corrosion, les tests gravimétriques et électrochimiques ont montré une efficacité de 92% pour les composés volatils (900 ppm) et de 93% pour les composés non volatils (250 ppm), confirmée par des analyses de surface (MEB-EDS) et de spectrophotométrie UV-vis. Une étude théorique DFT a exploré les interactions avec l'acier doux en présence de HCl. En conclusion, le citrus démontre des propriétés prometteuses en tant qu'agent antioxydant, antibactérien, et anti-corrosion, ouvrant la voie à des applications potentielles dans le domaine pharmaceutique et industriel.

Mots-clefs : *Citrus reticulata* ; Polyméthoxyflavones ; HPLC-PDA/MS/NMR ; EIS/PDP/MEB-EDS/UV-vis ; Activité antioxydante/antibactérienne/anticorrosion.

Abstract

This thesis explores the pharmaceutical potential of secondary metabolites extracted from *Citrus reticulata* waste. Volatile compounds, extracted by hydrodistillation (yield 2.13%), are mainly d-limonène (82%). Non-volatile compounds were extracted by a series of elutions using: hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol. The chloroform fraction was selected and purified by HPLC-PDA and Prep-HPLC, isolating five metabolites, including predominant NOB and HEM. Antioxidant activity, assessed by DPPH, ABTS and FRAP assays, showed a significant capacity of 2.04 mmol. Antibacterial efficacy, measured by dilution method on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* revealed a minimum inhibitory concentration of 12.5 µg/mL. For corrosion inhibition, gravimetric and electrochemical tests showed an efficiency of 92% for volatile compounds (900 ppm) and 93% for non-volatile compounds (250 ppm), confirmed by surface analyses (SEM-EDS) and UV-vis spectrophotometry. A theoretical DFT study explored interactions with mild steel in the presence of HCl. In conclusion, citrus show promising properties as antioxidant, antibacterial and anti-corrosion agents, paving the way for potential applications in the pharmaceutical and industrial fields.

Keywords: Citrus reticulata ; Polymethoxyflavones ; HPLC-PDA/MS/NMR ; EIS/PDP/MEB-EDS/UV-vis ; Antioxidant/ Antibacterial/ Anticorrosion activity

Liste des publications

1. **A Najem**, M Sabiha, M Laourayed, A Belfhaili, F Benhiba, M Boudalia, I Warad, A Bellaouchou, A Guenbour, Abdelkader Zarrouk. *New green anti-corrosion inhibitor of citrus peels for mild steel in 1 M HCl: Experimental and theoretical approaches*. Chemistry Africa 5 (4), 969-986, 2022
2. **Ayoub Najem**, Othon S Campos, Gábor Girst, Mounir Raji, Attila Hunyadi, José García-Antón, Abdelkbir Bellaouchou, Hatem MA Amin, Maria Boudalia. *Experimental and DFT atomistic insights into the mechanism of corrosion protection of low-carbon steel in an acidic medium by polymethoxyflavones from citrus peel waste*. Journal of The Electrochemical Society 170 (9), 093512, 2023
3. **A Najem**, M Boudalia, M Sabiha, A Laqhaili, A Chibani, N Chahboun, A Bellaouchou, A Zarrouk. *Exploring citrus waste's potential as an antioxidant, antibacterial, and anti-corrosion agent*. Chemical Data Collections 50, 101114, 2024
4. Fatima-Zahra Eddahhaoui, **Ayoub Najem**, Maha Elhawary, Maria Boudalia, Othon S Campos, Mohamed Tabyaoui, Anton José Garcia, Abdelkbir Bellaouchou, Hatem MA Amin. *Experimental and computational aspects of green corrosion inhibition for low carbon steel in HCl environment using extract of Chamaerops humilis fruit waste*. Journal of Alloys and Compounds 977, 173307, 2023
5. Abderrahim Fiouz, Said Chakiri, **Ayoub Najem**, Mounir El Hezzat, Mohamed Ben Abbou, Abderrahim Lamnii, Abdelkader Chibani, Marouane Aouji, Ismail Warad, Abdelkader Zarrouk. *Study of The Physico-Chemical and Microbiological Quality of Water from River Innaouene, Taza Province, Morocco*. Ecological Engineering & Environmental Technology (EEET) 25 (2), 2024
6. A Fiouz, M El Hezzat, S Chakiri, **A Najem**, A Chibani, Z Doudech, H El gasmi, I. Warad, N. Chahboun, A. Zarrouk. *Impact of margins on groundwater quality in the province of Taza, Morocco*. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences (ISSN 2226-9614), 2024
7. Malika Sabiha, Siham Yanisse, Maria Boudalia, **Ayoub Najem**, Fouad Benhiba, Amin Belfhaili, Abdelkbir Bellaouchou, Mustapha Bouatia. *Promising Antioxidant, Antibacterial and Anticorrosive Properties of an Essential Oil Extract of Origanum Majorana L. from Morocco*. Biointerface Res. Appl. Chem 13, 1-27, 2023
8. Abdellah LAQHAILI, Sanaâ SAOIABI, Malika SABIHA, **Ayoub NAJEM**, Asmae EI-YAHYAOUI, Souhayla LATIFI, Abdelkbir BELLAOUCHOU, Ahmed EI SAOIABI, Mostapha LOTFI, Mahjoubia MOSADDAK, Abdelhak HAKIKI, Abdellah GENBOUR, Younes ZAID. *Insecticide Activities of the Essential Oil of Lavandula Stoechas from the Region of Doukkala and Roummani (Morocco)*. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences (ISSN 2226-9614), 2023
9. Abdellah Laqhaili, AR Charof, Zakaria MENNANE, Sanaâ SAOAIBI, Malika SABIHA, **Ayoub NAJEM**, Asmae EI-YAHYAOUI, Souhayla Latifi, Abdelkbir BELLAOUCHOU, Ahmed SAOAIBI, EI Mostapha LOTFI, Mahjoubia MOSADDAK, Abdelhak HAKIKI, Abdellah GUENBOUR, Younes ZAID. *Antibacterial and antifungal activities of polygon mint essential oils*. Int. J. Chem. Biochem. Sci 22, 79-85, 2022

Liste des communications

1. **Communication par présentation:** *Neuroprotective potential of polymethoxylated flavones isolated from Citrus reticulata*. Conference on Medical and health sciences. Symposium of Young Researchers on Pharmacognosy (3) (2022) (Szeged) Hungary. (DOI: 10.14232/syrpharmacognosy.2022.b3)
2. **Communication par présentation:** *Citrus Polymethoxyflavones as Corrosion Inhibitor for Mild Steel in HCl medium*. Najem Ayoub, Sabiha Malika , Echihi Siham , Bellaouchou Abdelkbir , Boudalia Maria. 2022, 73-77 1ST INTERNATIONAL CONFERENCE ON CHEMICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES (ICCBS'22). Turkey. (DOI: 10.2478/9788367405256-011)
3. **Communication par présentation:** *Green anticorrosion agent from citrus peels for mild steel in 1 M HCl medium: Experimental and theoretical approaches*. A. Najem, M. Sabiha, M. Laourayed, A. Belfhaili, F. Benhiba, M. Boudalia, A. Bellaouchou, A. Guenbour, A. Zarrouk. JOURNÉES DOCTORIALES-FSR, DU 18 AU 22 JUILLET 2022, Rabat, Maroc
4. **Communication par affiche:** *Experimental and theoretical approaches of a new green anti-corrosion inhibitor of citrus*. A. Najem, M. Sabiha, S. Echihi, M. Laourayed, A. Belfhaili, F. Benhiba, M. Boudalia , I. Warad, A. Bellaouchou, A. Guenbour, A. Zarrouk. THE 2ND INTERNATIONAL CONGRESS ON PURE AND APPLIED SCIENCES-2022 (ICPAS'22), Meknès, Maroc
5. **Communication par affiche:** *Déchets d'écorces de citrus comme inhibiteur de corrosion pour l'acier doux en milieu acide chlorhydrique*. A. NAJEM, M. SABIHA, S. ECHIH, M. BOUDALIA, A. BELLAOUCHOU, A. GUENBOUR, A. ZARROUK. The 1st Edition of the Multidisciplinary Doctoral Days 29-30 January 2022 (16 Hours). The Moroccan Association For Applied Sciences & Innovation (MAASI). Kénitra, Maroc
6. **Communication par affiche:** *INVESTIGATING CITRUS PEEL'S ESSENTIAL OIL AS CORROSION INHIBITOR FOR STEEL IN ACIDIC MEDIUM*. A. NAJEM, M. SABIHA, M. LAOURAYED, S. ECHIH, M. BOUDALIA, A. BOUTAKIOUIT, A. BELLAOUCHOU, A. LAQHAILI, A. GUENBOUR. La 3ème Edition de la Journée sur la Corrosion et l'Environnement (JCE) 28 au 29 mai 2021, Oujda, Maroc

Liste des abréviations

AA	Acide Ascorbique
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
¹ H-NMR	Résonance Magnétique Nucléaire du Proton
¹³ C-NMR	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbon
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
SM-HR	Spectrométrie de Masse à Haute Résolution
DPPH	2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Pouvoir Antioxydant Réducteur Ferrique
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
EDX	Spectroscopie de Rayons X à Dispersion d'Energie
HE	Huile Essentielle
PMF	Polyméthoxyflavones
IC ₅₀	Concentration équivalente à 50% de DPPH neutralisé
EC ₅₀	Concentration à laquelle l'absorbance est égale à 0,5
SM	Spectrométrie de Masse
UV	Ultra-Violet
ΔH _a	Enthalpie libre d'activation
ΔG°	Variation d'enthalpie libre (ou énergie libre de Gibbs)

ΔS°	Variation d'entropie
CE	Contre Electrode
ECS	Electrode au Calomel Saturé
RE	Electrode de Référence
SIE	Spectroscopie d'impédance Electrochimique
PDP	Polarisation Potentiodynamique
C_{dl}	Capacité de double couche
E_{corr}	Potentiel de corrosion
I_{corr}	Densité de courant de corrosion
R	Résistance
R_p	Résistance de polarisation
S	Surface
CPE	Élément à phase constante
C	Capacitance
E_a	Energie d'activation
T	Température
θ	Taux de recouvrement
d	Epaisseur de la couche

Table des matières

Dédicace.....	I
Remerciements.....	II
Résumé.....	IV
Abstract	V
Liste des publications	VI
Liste des communications	VII
Liste des abréviations	VIII
Table des matières	X

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique et positionnement du problème

Introduction	4
I. Généralités sur les métabolites secondaires.....	4
I-1. Généralités sur les huiles essentielles.....	5
I-1-1. Généralités sur la distillation.....	6
I-1-2. Composition chimique des huiles essentielles	8
I-1-3. Biosynthèse des constituants des huiles essentielles.....	12
I-1-4. Propriétés des huiles essentielles	17
I-1-5. Toxicité des huiles essentielles	19
I-1-6. Principaux domaines d'application	19
I-2. Etude phytochimiques des composés phénoliques.....	21
I-2-1. Définition des composés phénoliques	21
I-2-2. Classification.....	21
I-3. Activités biologiques des polyphénols	36
I-4. Intérêts thérapeutiques des polyphénols	54
I-5. Activité antibactérienne et antifongique.....	57
I-6. Activité anticorrosion	62
I-6-1. Généralités sur la corrosion.....	63
I-6-2. Généralité sur les inhibiteurs de corrosion	69
I-6-3. Relation structure-activité	79
Conclusion.....	81

Chapitre II : Procédures expérimentales et méthodes de caractérisation

Introduction	85
II. Techniques d'extraction, de séparation et d'identification :	85
II-1. Huiles essentielles	85

II-1-1. Caractérisation des HE.....	87
II-2. Polyphénols	90
II-2-1. Extraction des polyphénols	90
II-2-2. Caractérisation des polyphénols	95
II-2-3. Isolation de l'Heptaméthoxyflavone et de la Nobiletine	99
II-2-4. Méthodes d'évaluation des activités	101
II-2-4-1. Évaluation de l'activité antioxydante	101
II-2-4-2. Évaluation de l'activité antibactérienne	103
II-2-4-3. Évaluation de l'action anticorrosion.....	104
II-2-4-4. Outils de caractérisation et d'analyse morphologique	104
Conclusion.....	104

Chapitre III : Evaluation des activités biologiques

Introduction	115
III. Préparation et caractérisation des métabolites secondaires.....	115
III-1. Extraction des huiles essentielles.....	115
III-2. Composition chimique des huiles essentielles	115
III-3. Séparation, purification et élucidation structurale des polyméthoxyflavones	118
III-4. Activités biologiques	127
III-4-1. Activité antioxydante.....	127
III-4-2. Activité antibactérienne.....	131
III-5. Exploration de l'hémisynthèse pour améliorer les propriétés des molécules isolées.	132
Conclusion.....	132

Chapitre IV : Application dans le domaine de la corrosion

Introduction	139
IV-1. Mesure de la perte de poids	139
IV-2. Essais électrochimiques	140
IV-2-1. Mesure de l'OCP.....	140
IV-2-2. Etude de polarisation potentiodynamique	141
IV-2-3. Mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique	143
IV-3. Effet de la température.....	147
IV-4. Caractérisation et étude de surface	154
IV-4-1. Spectroscopie Ultra-violet (UV)	154
IV-4-2. Microscopie Electronique à Balayage (MEB/EDS).....	155
IV-5. Approche de la théorie fonctionnelle de la densité pour HE	158
IV-6. Approche de la théorie fonctionnelle de la densité pour PMFs.....	162
Aperçu des mécanismes	164
Conclusion.....	164
Conclusion générale	164

Introduction générale

Les ressources naturelles présentent divers intérêts dans le domaine de l'industrie, comme les cosmétiques, les parfums, les produits pharmaceutiques[1], etc. Et parmi ces matériaux on trouve les huiles essentielles. Ce type de substances naturelles contient un large éventail d'activités biologiques, telles que les activités antibactériennes, antioxydantes, antifongiques [2,3]... Nous constatons que les agrumes sont l'une des principales cultures fruitières consommées dans le monde et qu'ils représentent un pourcentage élevé de notre alimentation quotidienne. Ils contiennent des variétés de substances phytochimiques dans tous les fragments de la plante (pelures, feuilles, fruits, etc.). La production de mandarines au Maroc a été estimée en 2019 à plus d'un million de tonnes. La transformation et la conversion des agrumes génèrent une quantité importante de déchets et particulièrement les pelures qui représentent environ 50% du fruit et les déchets de pelures d'agrumes sont une source précieuse de plusieurs composés importants tels que le limonène, les caroténoïdes, l'acide ascorbique, la pectine, l'huile essentielle[4]... La plupart de ces substances phytochimiques sont bioactives et peuvent être utilisées pour traiter de nombreuses maladies causées par l'oxydation[5]. Le stress oxydatif fait partie des maladies causées par un déséquilibre entre la production et l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène dans les cellules[6]. Un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les éléments antioxydants disponibles dans l'organisme entraîne des dommages aux cellules et tissus environnants. La nécessité d'améliorer et de fournir des agents antioxydants reste un défi. Dans le cadre de cette étude, nous examinons dans un premier temps l'utilisation des déchets de citrus pour produire des agents antioxydants et antibactériens naturels. Le matériel végétal de *Citrus reticulata* de cinq régions (Meknès, Beni Mellal, Berkane, Agadir et Marrakech) obtenu auprès d'une coopérative est considéré comme un déchet, après avoir extrait les fruits de la plante pour les utiliser dans les confitures et le jus. Une grande quantité d'épluchures reste comme résidu et doit être recyclée. En outre, le Maroc est un grand producteur d'une grande variété d'agrumes, dont la mandarine, la clémentine et le navel. L'accent est mis sur la valorisation et le traitement des résidus générés par la récupération des fruits d'agrumes. Un examen approfondi de la littérature a montré que très peu d'informations sont connues concernant la composition chimique, les activités antimicrobiennes, antioxydantes et comme application contre la corrosion de l'huile essentielle d'écorces de

Citrus reticulata cultivé au Maroc. Par conséquent, l'objectif de la présente étude est (1) d'analyser la composition chimique de l'huile essentielle des écorces de *Citrus reticulata* par GC-MS et (2) d'explorer l'activité antioxydante par DPPH, FRAP et ABTS. Ainsi que la capacité antibactérienne par MIC de l'huile extraite.

Dans l'autre côté, l'acier est l'épine dorsale de nombreuses industries et de nombreux produits dans les sociétés modernes. Cependant, l'acier peut naturellement souffrir de la corrosion dans des environnements agressifs tels que les acides et les bases[7,8]. Les conséquences de la corrosion de l'acier peuvent être vitales, par exemple dans les infrastructures pétrochimiques, car elle entraîne d'énormes pertes économiques et des problèmes de conservation et de sécurité des matériaux[9,10]. Les coûts de maintenance des structures endommagées peuvent être énormes par rapport aux mesures de contrôle de la corrosion. Quelques rapports ont pris en considération l'utilisation de l'analyse chimique, par exemple HPLC, FTIR ou NMR, pour identifier les principaux composés de l'extrait végétal qui sont responsables de l'activité anticorrosion[28]. Par conséquent, l'isolement et l'identification du composé chimique de l'extrait sont essentiels pour comprendre son mécanisme d'action et guider le développement d'inhibiteurs efficaces. *Citrus reticulata* (Rutacée), communément appelés mandarines, sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire, la médecine et les cosmétiques[29]. Sa transformation agro-industrielle et sa fabrication produisent des quantités considérables de déchets tels que les pelures, les grains et les pulpes de fruits, qui représentent 50% de la transformation brute des fruits précieux. Des méthodes électrochimiques (y compris la polarisation potentiodynamique (PDP) et la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS)), la méthode gravimétrique et les mesures de l'angle de contact ont été menées pour évaluer les propriétés d'inhibition de l'extrait de la plante. En utilisant des simulations DFT, à notre connaissance, pour la première fois sur ces molécules, le mécanisme d'inhibition et la forte interaction molécule-surface ont été discutés. Les résultats *in silico* et expérimentaux sont en bon accord.

Chapitre I :
Synthèse Bibliographique
et positionnement du
problème

Introduction

Dans cette première partie de notre étude bibliographique, nous aborderons de manière globale les métabolites secondaires et les différentes méthodes d'extraction à partir des plantes et des ressources naturelles. Nous analyserons également l'impact de ces métabolites en tant qu'agents dotés d'activités antioxydantes et antimicrobiennes, ainsi que leur rôle en tant qu'inhibiteurs de la corrosion.

I. Généralités sur les métabolites secondaires

De tout temps, le monde des végétaux nous fournit les éléments nécessaires à la vie de l'espèce humaine. De plus, les plantes sont toujours la principale source de principes actifs, avec une grande variété de fonctions et d'applications.

Les huiles essentielles (HEs) et les extraits organiques (EOs) obtenus des plantes, comptent parmi les principes actifs les plus importants en raison de leurs applications multiples et différentes. Avant de procéder à cette étude chimique et biologique des agrumes (Citrus), il nous a semblé fondamental de réaliser dans ce contexte une petite revue bibliographique relative aux métabolites secondaires[32].

Les huiles essentielles ou encore les essences des plantes en général sont des produits volatils, huileux, odorants et sans coloration ou très légèrement teintés, qui proviennent de la méthode de distillation à la vapeur, de la méthode d'expression ou de la méthode d'enfleurage du matériel végétal[33]. Et les extraits organiques sont des produits non volatils qui proviennent de différentes méthodes d'extractions (soxhlet, macération, sonication,...).

Ces HEs et EOs sont distribuées largement dans le règne végétal et sont exclusivement présentes chez les plantes supérieures. Les HEs sont présentes dans des proportions notables chez environ 2000 espèces regroupées en 60 familles de plantes, tels que les Lamiacées (citrus, menthe, basilic, lavande, etc.), les Lauracées (sassafras et cannelle), les Myrtacées (eucalyptus, etc.), ainsi que les Apiacées (carvi, coriandre, etc.)[34]. On peut retrouver les huiles essentielles sur tous les organes de la plante : fruits, racines, graines, écorce, fleurs, feuilles etc. Elles sont élaborées au sein de cellules très spécialisées, le plus souvent regroupées en canaux et en poches sécrétoires, ils sont

ensuite véhiculés vers les différentes parties de la plante, pendant la période de croissance de celle-ci[35].

Elles se différencient des huiles grasses dans leurs caractéristiques physiques et dans leur composition, dans la mesure où elles se volatilisent lorsqu'elles sont chauffées et que leurs taches sur le papier sont transitoires[36]. Elles se distinguent par leurs qualités organoleptiques (goût, couleur et odeur). A température normale, elles se présentent habituellement sous un aspect liquide et ont une densité qui est souvent plus petite que celle de l'eau. Ces substances sont incolores ou légèrement jaunes, à part quelques exceptions telles que les HEs d'absinthe (vert), de cannelle (orange), ou de camomille (bleu). Elles possèdent un indice de réfraction très élevé et le plus fréquemment, elles présentent un pouvoir rotatoire. Elles disposent de nombreux indices chimiques (par exemple : indice d'acide, indice d'ester, indice de carbonyle,).

Elles sont faiblement solubles avec l'eau et sont solubles avec les solvants organiques (alcool, éther, hexane,)[37]. Ils permettent de dissoudre les graisses, le soufre, l'iode, le phosphore ainsi que de réduire certains sels. En outre, ils peuvent s'oxyder ou se polymériser aisément. Afin d'éviter ce phénomène, il convient de les tenir à l'abri de la lumière ainsi que de l'air.

I-1 Généralités sur les huiles essentielles

La récupération des huiles essentielles de la matière végétale peut être effectuée selon de nombreux et divers procédés, reposant sur des pratiques anciennes : Distillation, Enfleurage, Expression, ou plus modernes : extraction par exposition à des radiations ou à des ultrasons[38].

La méthode de distillation est celle qui reste la plus répandue du fait de sa facilité de mise en œuvre. La figure I-1 décrit les diverses voies d'extraction des essences et huiles essentielles.

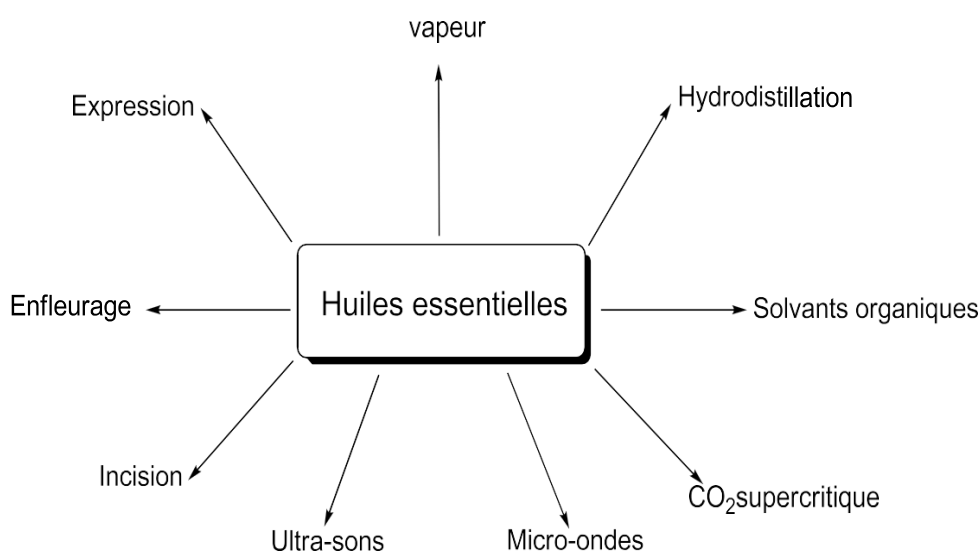


Figure I-1: Modes d'extraction des huiles essentielles

I-1-1. Généralités sur la distillation

Hydrodistillation

Il s'agit de la technique la plus simple et la plus courante. En effet, elle se traduit par l'immersion immédiate de la masse brute dans l'eau, le tout étant ensuite porté à ébullition. Cette opération est le plus souvent réalisée à la pression ambiante. Les vapeurs produites sont ensuite condensées par un système de refroidissement par circulation d'eau froide. Au cours de la distillation des HEs, de nombreux phénomènes se situent à la base des transferts de matière et des échanges entre les phases solides, liquide et vapeur, et par conséquent un grand nombre de paramètres influencent la qualité et les rendements de la production de ces huiles essentielles[39].

En effet, les expériences effectuées tout au long de l'épuisement du substrat en essence indiquent que la période de distillation soit plus longue pour les organes végétaux ligneux par rapport aux organes végétaux non ligneux. La différence est fortement corrélée à la position des dispositifs de mise au point ou de stockage des HEs qui se situent soit à la surface, soit dans les tissus de la plante. Par conséquent, ces structures exercent également une influence sur le processus de déroulement d'hydrodistillation, autrement dit sur les différents mécanismes successifs qui interviennent, par conséquent sur la durée du processus d'extraction

Lorsque ces structures sont superficielles, on observe que la membrane externe

ou cuticule se décompose rapidement lors de l'ébullition, et les composés volatils sont immédiatement évaporés. Dans le cas où les HEs sont sous-cutanés, ceux-ci subissent d'abord une diffusion à travers l'épaisseur du tissu végétal puis entrent en contact avec l'eau ou ses vapeurs afin de pouvoir ensuite s'évaporer comme pour les sécrétions superficielles.

Entraînement à la vapeur d'eau

Avec ce type de distillation, on fait traverser l'installation par un flux de vapeurs d'eau qui entraînera les substances volatiles hydrophobes. Ensuite, après condensation, la division se fait par décantation. Ce procédé permet de perfectionner la qualité de l'HE, en réduisant au maximum ses modifications hydrolytiques.

Distillation par les solvants organiques

Cette technique consiste à immerger les plantes dans un solvant organique (comme l'hexane) qui dissout les composés aromatiques. Après filtration, le solvant est évaporé, laissant derrière lui une résine parfumée appelée concrète. Cette concrète est ensuite traitée à l'alcool pour obtenir une huile essentielle pure.

Distillation assistée par micro-ondes ou ultrasons

Ces méthodes actuelles apportent plusieurs avantages considérables par rapport aux procédés classiques. En effet, elles demandent un plus faible volume de solvant et une durée de réchauffement moindre ce qui empêche la fuite et la dégradation des molécules volatiles et thermosensibles. De ce fait, elles aboutissent à des rendements plus importants.

Extraction assistée par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes repose sur le chauffage de l'agent d'extraction (eau ou bien solvant organique) mis en contact direct avec la plante au moyen de micro-ondes, ce qui assure un traitement homogène. Ce dernier permet un chauffage homogène. Cette nouvelle méthode d'extraction offre un avantage considérable en termes de temps et d'énergie.

Extraction assistée par ultrasons

La substance végétale mise en contact au solvant (eau ou solvant organique) est plongée dans un bain de type sonication soumis à une agitation régulière.

Enfleurage

La technique de l'enfleurage est une technique assez délicate. Elle date de l'antiquité égyptienne et repose sur la puissante affinité que possèdent les molécules odorantes pour les matières grasses. Il est surtout réservé aux organes fragiles que constituent les fleurs (tubéreuse, violette, jasmin,). Celles-ci sont finement étendues sur des plaques de verre revêtues d'une fine pellicule de graisse et ces dernières sont déposées sur des cadres en bois. Les matières volatiles se propagent et sont captées par la pellicule de graisse. Puis, ces graisses sont évacuées avec de l'alcool. Cette opération tend à se perdre car elle exige beaucoup de temps et d'efforts[40].

Pressage à froid

Le procédé d'expression ou pressage à froid est propre à la récupération des huiles essentielles des fruits d'agrumes : oranges, citrons, mandarines, etc.... Elle constitue une méthode facile qui permet de briser de façon mécanique par frottement les poches à huile localisées au niveau de l'écorce ou le péricarpe du fruit afin d'en recueillir le matériel.[41,42]

I-1-2. Composition chimique des Huiles Essentielles (HEs)

La composition chimique de ces HEs est très complexe et peut différer notamment selon l'organe, les conditions climatiques, le type de sol, les méthodes de culture et le mode d'extraction[42]. Les HEs constituent un ensemble de composés regroupés en trois grandes catégories : terpéniques, aromatiques et divers.

Terpènes

Ce sont des hydrocarbures provenant de la combinaison de deux ou plusieurs unités de type isoprénique. Ce qui signifie qu'ils sont des polymères du groupe isoprène dont la formulation brute est $(C_5H_8)_n$.

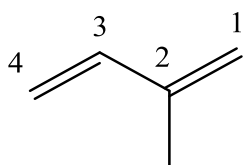


Figure I-2: Isoprène (2méthylbuta-1,3-diène)

Nous distinguons, par le nombre d'unités liées, les mono- en (C_{10}) ; les sesqui- en (C_{15}) ; les di- en (C_{20}) ; les tri- en (C_{30}) ; les tétra terpènes en (C_{40}) ainsi que les poly terpènes.

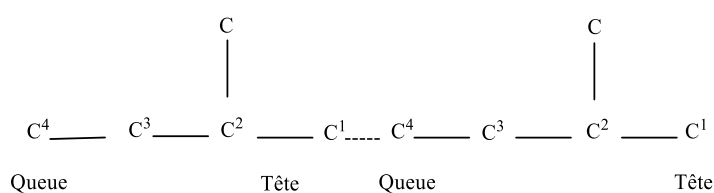
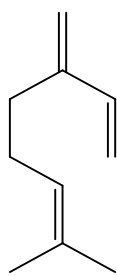


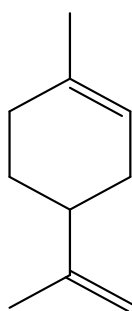
Figure I-3: Différenciations des terpènes par le nombre d'unités liées

Ces motifs sont éventuellement reliés entre eux au moyen de liaisons de type artemesyl, lavandulyl, santolinyl et chrysanthemyl, qui sont dites irrégulières[43].

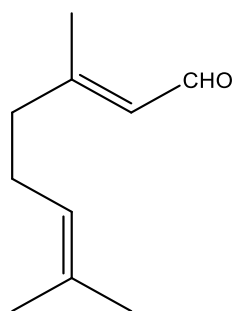
Les HEs renferment notamment des monoterpènes, des sesquiterpènes et plus rarement des diterpènes[44]. La structure des terpènes est très variée (acyclique - monocyclique - bicyclique) et comprend la plupart des fonctions chimiques des substances organiques. Pour information, certaines structures de monoterpènes et de sesquiterpènes sont illustrées sur la figure I-4.



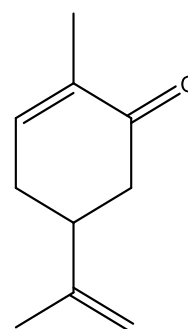
Myrcène



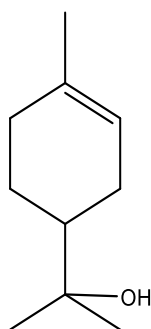
Limonène



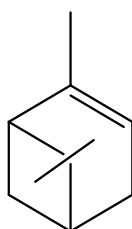
Géraniol



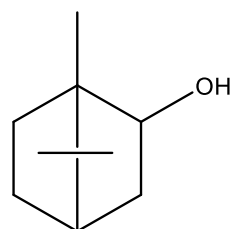
Carvone



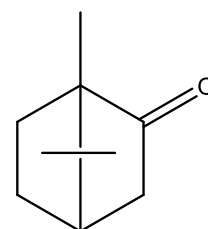
α-Terpinéol



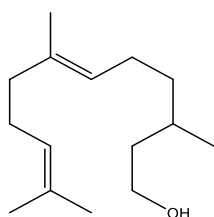
α-Pinène



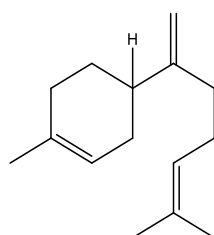
Bornéol



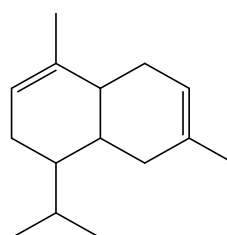
Camphre



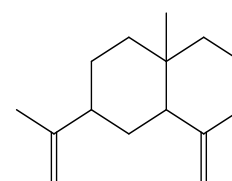
Farnésol



Cadinène



β-Bisabolène



β-Sélinène

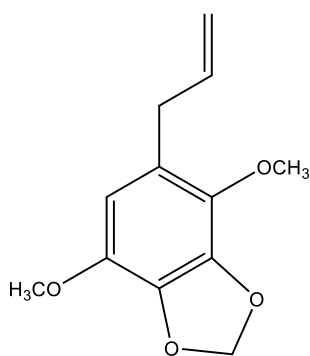
Figure I-4: Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes

Composés aromatiques

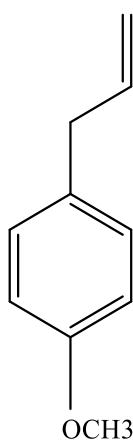
Les composés aromatiques proviennent du phénylpropane (C_6-C_3). On les trouve moins souvent que les terpènes. Cette catégorie regroupe des composés odorants tels que l'eugénoïl, la vanilline, l'anéthole, l'estragole, (Figure I-5). Elles sont fréquemment

retrouvées dans les HEs des Apiacées (fenouil, anis, persil, etc....) et elles sont caractéristiques de celles de l'estragon, de la vanille, du basilic, du clou de girofle, ... On les différencie les unes des autres grâce à :

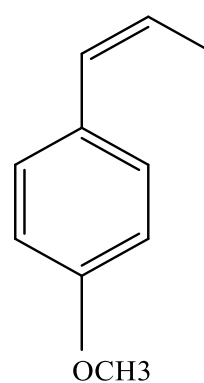
- ✓ La position et le nombre des groupes méthoxy et hydroxyle ;
- ✓ La position de la bi liaison de la chaîne latérale, propényle ou allylique ;
- ✓ Le degré d'oxydation dans la chaîne aliphatique (aldéhyde, alcool, cétone ou acide...).



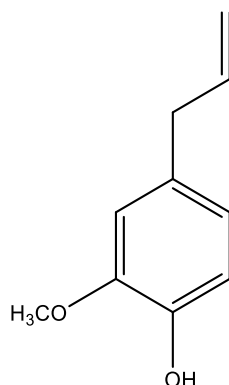
Apiole (persil)



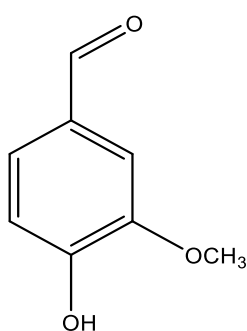
Estragole (basilic)



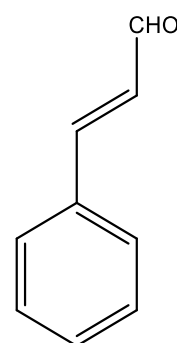
Cis-anéthole (anis)



Eugénol (girofle)



Vanilline (vanillier)



Cinnamaldéhyde (cannelle)

Figure I-5. Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane

Nous avons aussi d'autres composés d'origine multiple de faible masse moléculaire, pouvant être formés lors de l'hydrodistillation, correspondent à des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou à chaîne ramifiée présentant de nombreuses fonctions. Pour illustration, nous pouvons citer :

- Le kérosène et l'heptane dans l'huile de camomille ;
- Les acides en C₃ et C₁₀ ;
- Les esters acycliques notamment présents dans les fruits : acétate d'isoamyle (banane) ; acétate de butyle (pomme) ;
- Aldéhydes tels que l'octanal et aussi le décanal de fruit de Citrus ;
- Les alcools comme l'1-octen-3-ol de lavande, ...

Notons qu'il est important de préciser que de nombreux et multiples paramètres interviennent dans le rendement et la constitution chimique d'une HE. comme la provenance géographique et botanique, les paramètres climatiques, la description du sol, la répartition des sites de production, ... le mode de culture, la technique et les conditions de production ainsi que la préservation (séchage et stockage).

I-1-3. Biosynthèse des constituants des Huiles Essentielles

Le mécanisme de biosynthèse des composants des huiles essentielles obéit à deux approches utilisant l'acide mévalonique ou bien l'acide shikimique comme produits intermédiaires respectivement pour les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes[45,46].

Biosynthèse des terpènes

Le motif de départ de la préparation des terpènes par biosynthèse est en effet l'isopentényl diphosphate (isopentényl-3-yl pyrophosphate) : PPI3 ainsi que son isomère le diméthylallyl diphosphate (diméthylallyl pyrophosphate) : PPI2. Deux circuits de biosynthèse aboutissent à ces motifs de base à 5 atomes de carbone.

Tout d'abord, la voie du mévalonate. Elle a comme origine l'acétyl coenzyme A (CH₃COSCoA), qui est un produit de la glycolyse (catabolisme des sucres). Elle débute

par la condensation de trois éléments d'acétyl-CoA, puis passe par un composé en C6 (le mévalonate) et mène au PPI3.

Pour cette voie principale, le processus est initialement une condensation de type Claisen entre deux molécules d'acétyl-CoA pour conduire à l'acétoacétyl CoA.

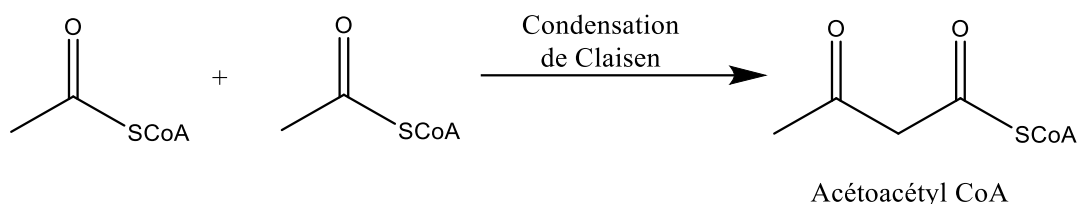


Figure I-6: Condensation de type Claisen pour obtenir l'acétoacétylCoA

La seconde phase est une réaction d'aldolisation effectuée entre une molécule d'acétylCoA et celle d'acétoacétylCoA. Après avoir été hydrolysé et réduit par le NADPH (Nicotine Adenine Dinucleotide Phosphate), on obtient l'acide mévalonique.

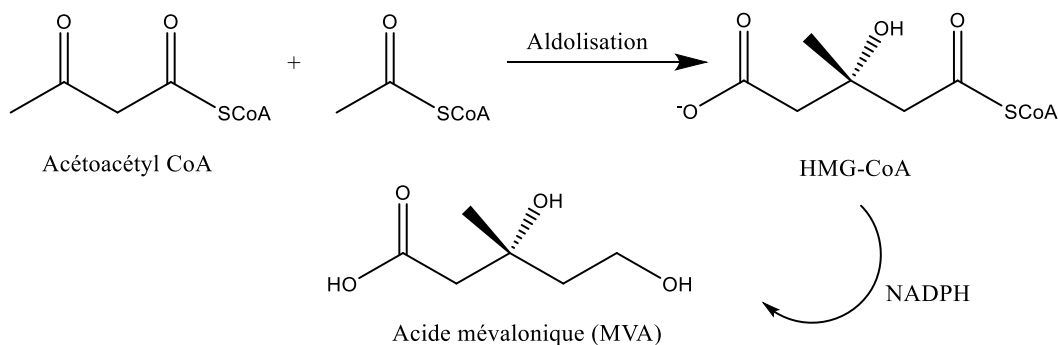


Figure I-7: Aldolisation pour obtenir l'acide mévalonique.

Les processus de déshydratation ainsi que de décarboxylation de l'acide mévalonique (AVM) selon une élimination bien concertée suite à sa pyrophosphorylation au moyen de l'ATP (Adénosine triphosphate), aboutissent aux deux intermédiaires en C5, bioprécurseurs des terpènes : le pyrophosphate d'isopentène-3-yle (PPI₃) mis en équilibre, grâce à un

échange de protons simple, avec le pyrophosphate de diméthylallyle (PPI₂).

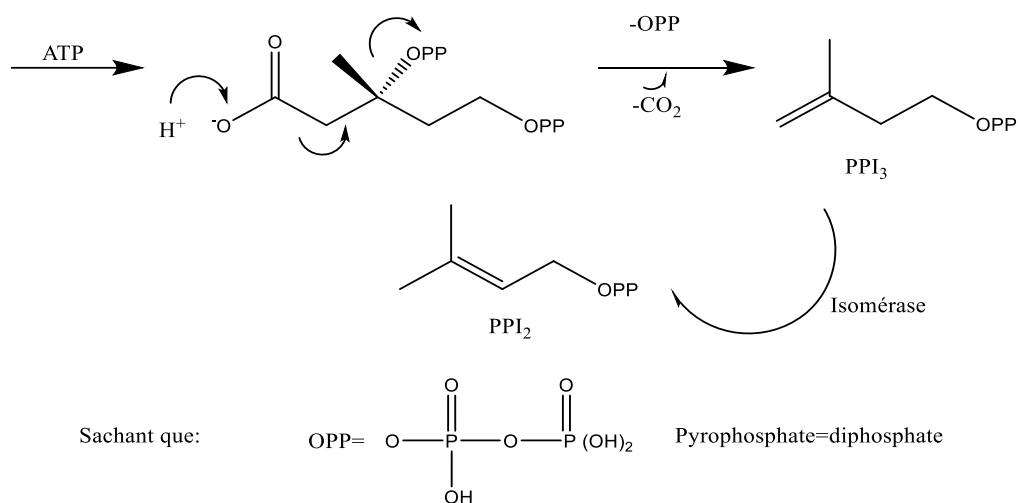


Figure I-8: Déshydratation suivi de décarboxylation

En effet, les deux intermédiaires PPI₃ et PPI₂ se rejoignent pour fabriquer du pyrophosphate de géranyle (PPG), qui constitue le point de départ de toutes les substances monoterpéniques.

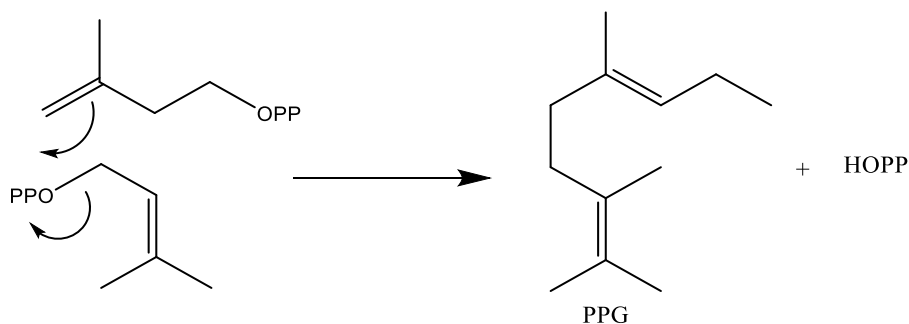


Figure I-9: Formation de pyrophosphate de géranyle (PPG)

En condensant une autre entité PPI₃ avec le pyrophosphate de géranyle, on aboutit au pyrophosphate de farnésyle, qui est le précurseur de tous les sesquiterpènes. Grâce à ce processus, nous obtiendrons le squalène (triterpène), puis les autres terpénoïdes. La figure I-9 décrit la biosynthèse des terpénoïdes.

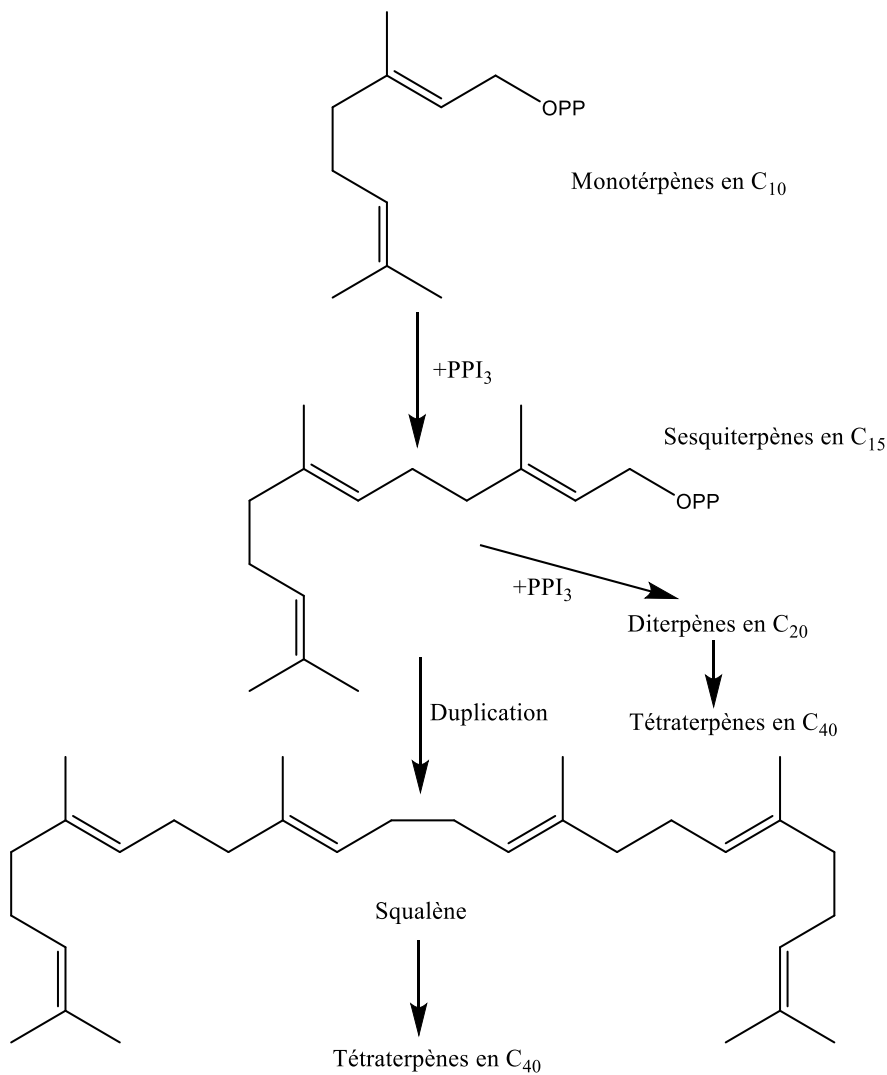


Figure I-10: Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie de l'acide mévalonique

La seconde voie, celle du phosphate de méthylerythritol (MEP), dite voie non mévalonique, fait partie des voies particulières aux plantes et se situe au stade des plastes. Il commence par la condensation entre une unité de pyruvate (C₃) et une unité de glycéraldéhyde 3- phosphate (C₃) et mène au phosphate de méthylerythritol, un produit chimique intermédiaire en C₅.

Ensuite, de multiples étapes enzymatiques aboutissent à la synthèse du PPI₃. Bien que cette voie n'ait été reconnue qu'à la dernière partie des années 1990, elle est devenue assez rapidement la voie principale de la biosynthèse de la plus grande partie des terpènes (Figure I-10).

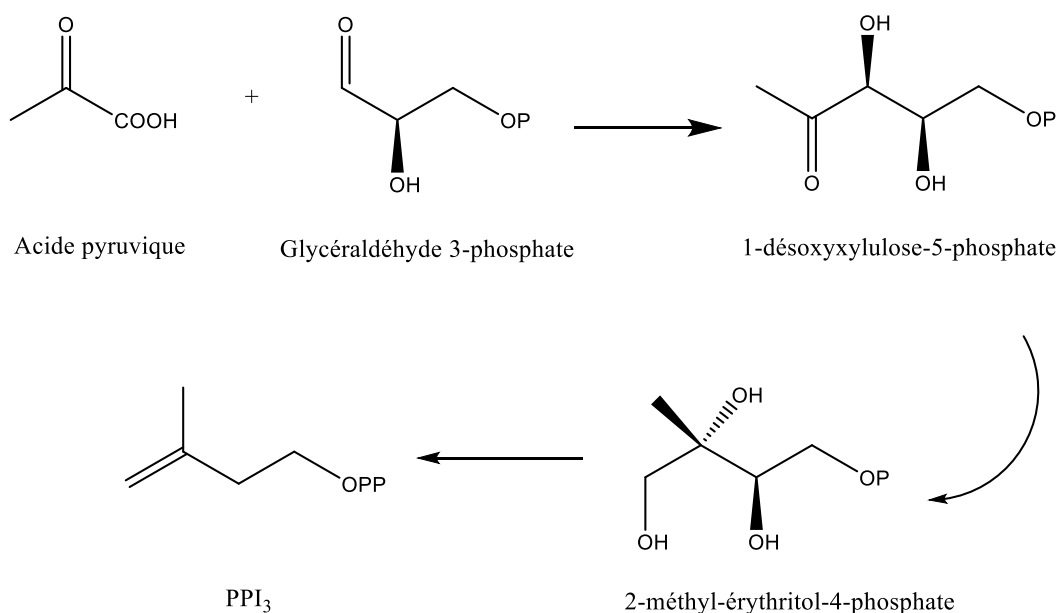


Figure I-11: Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie du méthylérythritol phosphate

Biosynthèse des phénylpropanoïdes

Par ailleurs, la voie de biosynthèse des composés dérivés phénylpropanes se réalise via l'acide shikimique en représentant le principal mode de constitution des phénols dans les plantes. Cette filière fait appel à une série de réactions et elle constitue la voie de biosynthèse principale des acides aminés aromatiques (tryptophane, phénylalanine, ...tyrosine).

L'acide en question est produit par condensation de l'acide pyruvique activé sous l'effet de la phosphorylation à partir d'un sucre phosphorylé. La mise en contact d'une seconde molécule d'acide pyruvique activé permet de produire l'acide préphénique qui, par voie de déshydratation et de décarboxylation, fournit l'acide phénylpyruvique.

Celui-ci est converti en phénylalanine, un acide aminé aromatique, responsable du métabolisme des composés aromatiques. La figure I-11 évoque les grandes étapes de la constitution des dérivés aromatiques : Le cas de l'acide cinnamique[47].

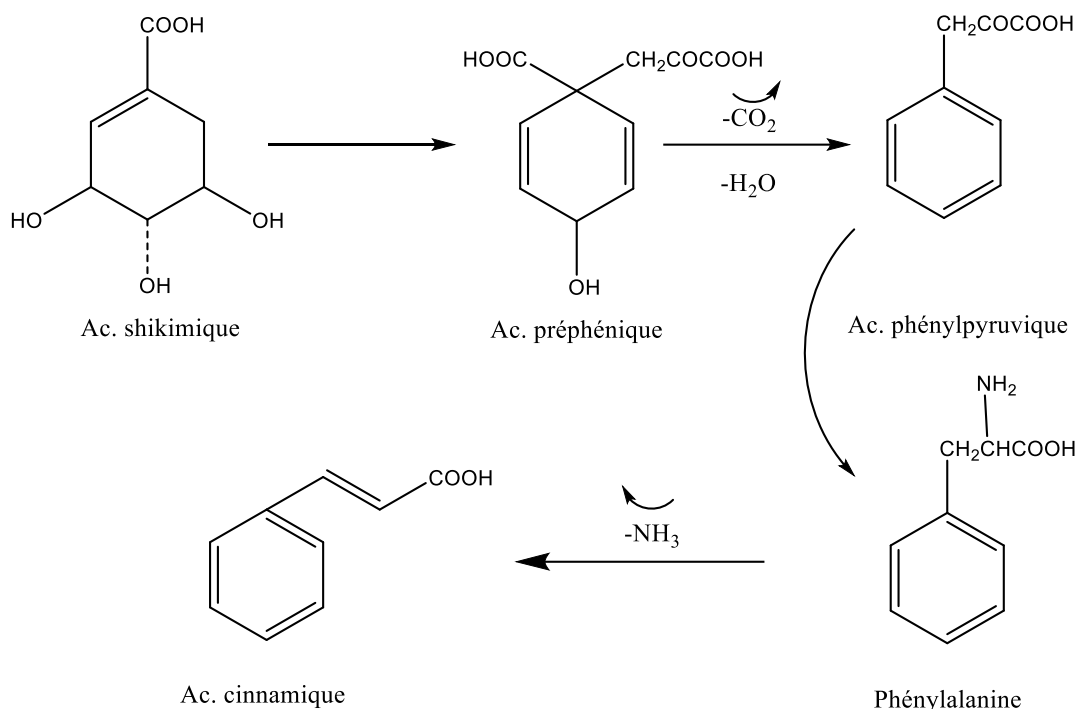


Figure I-12: Exemple de biosynthèse des dérivés du phénylpropane

I-1-4. Propriétés des huiles essentielles

Les HEs sont exploitées depuis toujours pour leurs multiples bienfaits sur le plan thérapeutique. En raison de la diversité moléculaire des constituants qu'elles contiennent, elles jouent des rôles et disposent de propriétés biologiques extrêmement diverses[48].

De fait les hydrocarbures monoterpéniques montrent des caractéristiques antalgiques en usage percutané, vermifuges, emménagogues, antiseptiques atmosphériques, antiparasitaires.... Les hydrocarbures sesquiterpéniques offrent des effets calmants, anti-inflammatoires, hypotenseurs[49]...

Les vertus que nous offre les HEs sont multiples et variées. Il nous est impossible de les énumérer tout. La constatation de leur éventuelle activité biologique a été soumise à de multiples études[50].

Propriétés biologiques

En effet, le spectre sur lequel agissent les HEs est très large puisqu'ils agissent contre un grand nombre de bactéries, y inclus celles qui résistent aux différents antibiotiques.

De même, quelques essences à activité antifongique permettent de s'opposer au

plus grand nombre de champignons, de moisissures en les réduisant à néant. Par ailleurs, ces activités diffèrent d'une huile essentielle à une autre, et selon les souches[51].

Les huiles essentielles exercent une action aussi bien sur les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif. Pourtant, les bactéries à Gram négatif apparaissent être moins sensibles à leur action et ceci est en rapport direct avec la composition de leur paroi cellulaire[52] à quelques rares exceptions près, telles que *Campylobacter jejuni* et *Aeromonas hydrophila* qui ont été qualifiées de particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles[53]. Toutefois, *Pseudomonas aeruginosa*, qui est une bactérie gram-négative, est toujours la moins active envers les essences végétales.

En général, les molécules aromatiques comme les phénols, ensuite les aldéhydes ainsi que les cétones, puis les alcools tout comme les éthers présentent le coefficient antibactérien le plus important. De manière générale, l'action de l'essence se fait selon trois stades distincts :

- Une augmentation de la perméabilité puis une disparition des constituants cellulaires par action de l'huile essentielle contre la paroi bactérienne ;
- Un blocage de la mise en production de l'énergie cellulaire ainsi que de la synthèse des composants structuraux grâce à l'acidification de la paroi interne de la cellule ;
- La mort de la bactérie due à la destruction de son équipement génétique.

Propriétés médicinales

Les huiles essentielles ont de nombreuses et diverses propriétés médicinales. En effet, la majorité des constituants des huiles essentielles possèdent un caractère antimicrobien, ce qui explique leur utilisation en tant qu'antiseptiques[54]. Par ailleurs, d'autres ont des effets digestifs ou des propriétés antispasmodiques, cicatrisantes, sédatives, etc... Toutes ces activités sont majoritairement dues à leurs éléments constitutifs terpéniques.

De même, de très nombreux HEs ont un effet sur tous les types de maux et sont particulièrement utilisés pour soigner les affections articulaires inflammatoires. Ils possèdent la propriété de fortifier et de stimuler les mécanismes de défense immunitaire de la personne. Dans ce sens, on pourrait dire que la plupart des essences aromatiques ont

une action cytophylactique (protection des tissus vivants). De plus, quelques HEs montrent des activités antitumorales et sont reprises dans le cadre du traitement curatif de quelques types de cancers (Melissa officinale, Nigelle).

I-1-5. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent provoquer des problèmes au niveau du système nerveux. Certaines molécules constituant ces huiles peuvent notamment être à l'origine de convulsions si elles atteignent à forte dose le tissu neuronal. Parmi ces molécules, on parle notamment des cétones monoterpéniques comme la menthone, la carvone, la verbénone, le camphre. Ou encore du 1,8 cinéole, de l'alpha et du bêta-pinène et de l'alpha-terpinène. Ces molécules peuvent présenter des atouts majeurs en aromathérapie, activités stimulantes ou au contraire relaxantes, mais leur utilisation peut donc être à double tranchants.

Les HEs sont de fortes et très actives substances. Elles forment une source de remèdes naturels inépuisable. Pourtant, il est important de préciser que le recours fréquent et abusif à l'automédication, surtout en ce qui concerne le mode de dosage et le mode d'application interne ou externe des HEs, est une pratique néfaste. Elle entraîne des effets secondaires de plus ou moins grande gravité dans l'organisme (coma, allergies, épilepsie, etc....) surtout chez les personnes sensibles (femmes enceintes et allaitantes, enfants, personnes âgées ou allergiques)[53]

En effet, une accumulation des HE dans le corps par des prises répétées peut aboutir à des nausées, à des maux de tête, ... La consommation de plus de 10 mL d'huile essentielle se révèle neurotoxique et épileptogène en raison de l'inhibition de la réserve d'oxygène vers les tissus encéphaliques.[55]

I-1-6. Principaux domaines d'application

Grâce à leurs nombreuses vertus, les essences HEs sont ainsi devenues une matière de grande importance sur le plan économique avec un intérêt croissant sur le marché. De fait, ils ont été exploités et présentés un large éventail de secteurs industriels comme la pharmacie pour leur activité antiseptique, antispasmodique, analgésique, apéritive, antidiabétique..., le secteur alimentaire en raison de leur activité antioxydante et leur pouvoir aromatisant, le secteur de la parfumerie et des produits cosmétiques grâce à leur caractère odoriférant.

Aromathérapie

En effet, l'aromathérapie constitue une sorte de médecine non conventionnelle dans laquelle les HEs occupent une place privilégiée car ils exercent de nombreux effets médicaux. De ce fait, ils sont employés de plus en plus fréquemment dans différentes spécialités de la médecine telles que : l'acupuncture, la podologie, la massothérapie, la rhumatologie, l'ostéopathie, et l'esthétique.

Agro-alimentaire

De part leurs caractéristiques antiseptiques et odorantes, les HEs sont journalièrement utilisés dans les recettes culinaires (laurier, ail, thym, ...). On les retrouve également très appréciés dans les boissons alcoolisées (kümmel, boissons anisées) ainsi que dans les confiseries (chocolat, bonbons, ...). Grâce à leur pouvoir antioxydant, elles conservent les aliments tout en évitant les moisissures, la préservation du smen notamment par le romarin et le thym[56].

Cosmétologie et parfumerie

Les HEs sont très sollicitées en parfumerie et en cosmétique du fait de leurs aptitudes odoriférantes. En effet, le secteur de la parfumerie est un grand consommateur d'essences (60%), et en particulier d'essences de jasmin, de rose, de violette et de verveine. Les HEs ont également été consommées en cosmétologie dans le but de parfumer les articles cosmétiques : shampooings, dentifrices, crèmes solaires, savons, rouges à lèvres.

De même, les produits d'hygiène, les détergents et les produits de lessive sont également très consommateurs de HEs pour dissimuler les effluents (pas toujours très agréables) contenus dans les produits purs.

Pharmacie

Quant aux essences de plantes, elles sont surtout destinées à la préparation d'infusions (verveine, menthe, thym, ...) et sont utilisées en galénique. En effet, plus de 40% des remèdes sont élaborés à partir de constituants actifs de plantes, à titre d'exemple la gastralgine qui est un anti-acide digestif se compose d'HE de carvi[57].

Par ailleurs, leurs qualités aromatiques les autorisent à masquer l'odeur indésirable des médicaments administrés par la bouche. En outre, de multiples médicaments en vente

à la pharmacie sont composés d'HE. comme des crèmes, des collyres, des élixirs.

I-2. Etude phytochimiques des composés phénoliques

Tout comme la plupart des métabolites secondaires, en effet, les polyphénols et plus particulièrement les flavonoïdes se sont formés pendant le développement de la plante afin de remplir quelques fonctions. Sur le plan de la fonction protectrice, ils protègent le végétal face aux agents infectieux que représentent les moisissures, les champignons ainsi que les bactéries. Ils garantissent sa propre protection vis-à-vis des rayons ultraviolets. Ils sont parfois des répulsifs qui freinent la croissance des autres espèces. Les polyphénols remplissent une fonction structurale, telle que la lignine, qui confère au bois sa rigidité[58]. Ils interviennent au niveau de la coloration des fleurs ou des fruits dans le but d'attirer le plus possible les insectes qui véhiculent les semences dans les fruits[57].

I-2-1. Définition des composés phénoliques

Selon la bibliographie, il semble y avoir deux propositions pour définir les polyphénols. Dans un premier temps, ils sont définis comme étant une structure moléculaire possédant de nombreux groupes phénoliques alors que dans un second temps, ils sont définis comme possédant un groupe phénolique polyhydrique (Figure I-13). En effet, ces polyphénols constituent des métabolites secondaires que les plantes synthétisent afin de se défendre aux agressions du milieu[53]. Ils constituent une variété de dérivés non azotés dont la structure est très diverse et dont environ 8000 composés ont déjà été recensés.

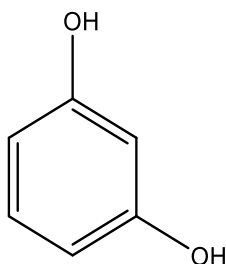


Figure I-13: Structure d'unité de base des polyphénols

I-2-2. Classification

Conformément à Corona (2011)[59], on peut diviser les polyphénols en 2

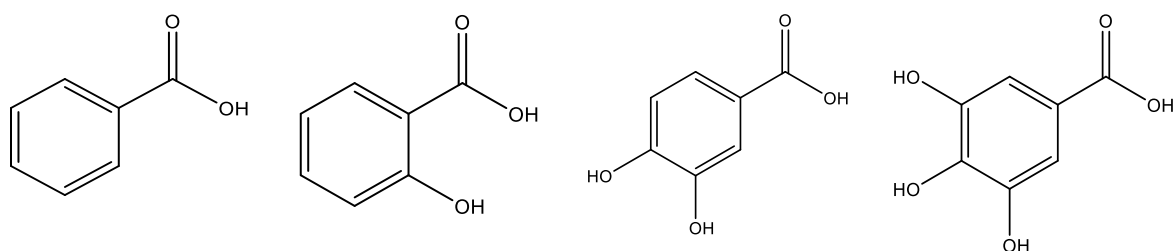
catégories principales : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes.

Les non-flavonoïdes

Cette catégorie renferme de multiples composés chimiques, et notamment : des acides phénoliques, des coumarines, des stilbènes hydroxylés, des lignanes, des xanthones et des lignines.

Les acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des composés rares dans la nature. Ils comprennent deux types de composés : le premier type regroupe les acides phénoliques issus de l'acide benzoïque qui forment par monohydroxylation ou polyhydroxylation respectivement les acides phénoliques et les acides polyphénoliques, l'acide protocatéchique et l'acide gallique (Figure I-14). Le deuxième type regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. Comme pour l'acide cinnamique, l'hydroxylation mène à l'acide p-coumarique ainsi qu'à l'acide caféique (Figure I-15)[60]



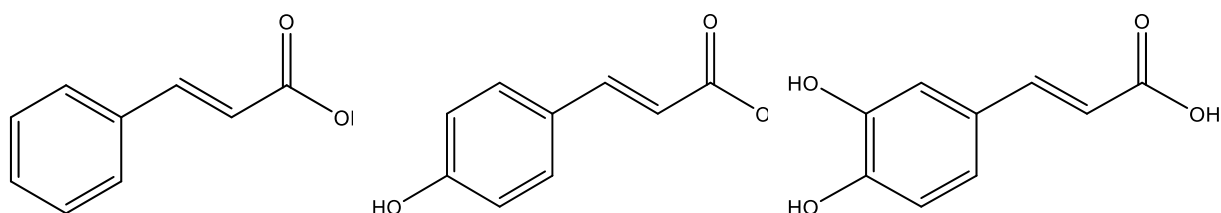
Acide benzoïque

Acide salicylique

Acide
protocatéchique

Acide gallique

Figure I-14: Hydroxylation d'acide benzoïque



Acide cinnamique

Acide p-coumarique

Acide caféique

Figure I-15: Hydroxylation d'acide cinnamique

Les stilbènes Hydroxylés

Ces dérivatifs hydroxyles constituent des composés représentés par deux noyaux

aromatiques associés à un groupe éthylénique ($C_6-C_2-C_6$). Le resvératrol, qui est l'un des stilbènes qui est le plus souvent connu, se retrouve dans le vin et le raisin (Figure I-16).[61]

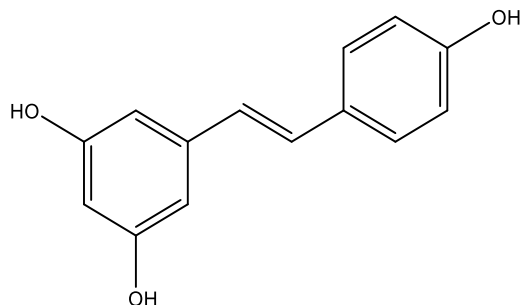


Figure I-16: Structure du resvératrol

Les coumarines

Les composés coumarines sont issus de la lactonisation des acides orthocoumariques. Une fois hydroxylé sur le cycle aromatique, ces coumarines sont des composés phénoliques avec des structures de nature variable. Elles sont en général modifiées en C_7 par un groupe hydroxyle[62].

La structure de base de ces composés est la benzo-2-pyrone. Il existe actuellement plus de 1000 composés coumariniques qui sont isolés, parmi lesquels plus de 800 proviennent de plantes ainsi que de microorganismes tels que le mensuol. Les composés coumarines ont une capacité pour prévenir la peroxydation des structures lipidiques membranaires ainsi que de freiner les radicaux hydroxyle, peroxyde et superoxyde.[61,62]

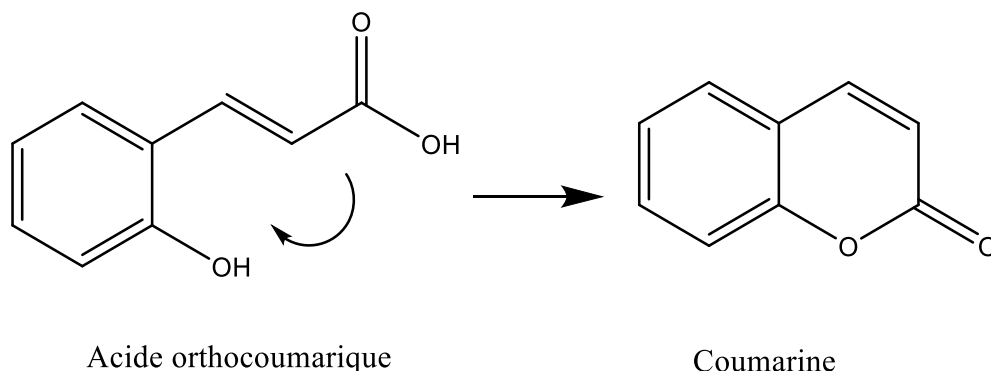


Figure I-17: Formation d'une coumarine

Les lignines et les lignanes

Les lignanes sont une catégorie importante de substances naturelles appartenant

au monde végétal. Ils constituent des dimères branchés de phénylpropènes. Ceux-ci sont notamment obtenus par dimérisation avec trois types d'alcools : l'alcool p-coumarique, l'alcool sinapique et l'alcool matiresinol. Le sécoisolariciresinol ainsi que le matiresinol constituent les deux principaux lignanes d'origine végétale[63] (Figure I-18).

La réaction de polymérisation entre ces trois alcools aboutit à la création de la lignine. Il convient de mentionner que la composition de la lignine varie des espèces aux espèces. On ne connaît pas encore la structure précise de la lignine, mais on peut affirmer que celle-ci est très complexe[64] (Figure I-19).

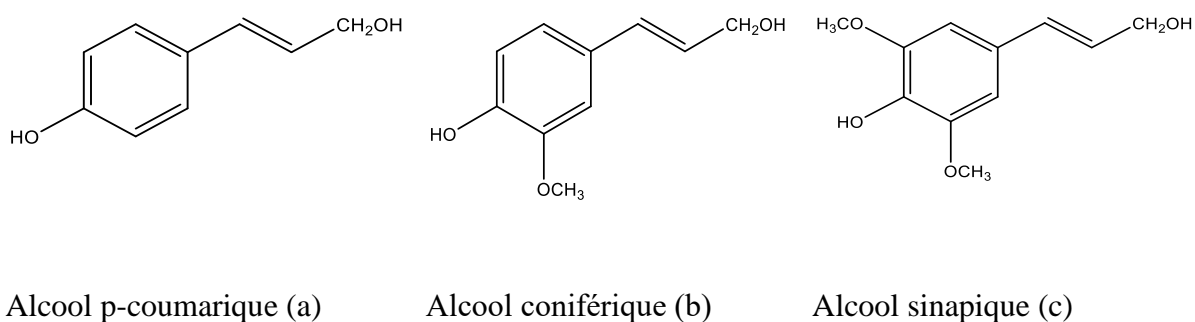


Figure I-18: Structure des lignanes.

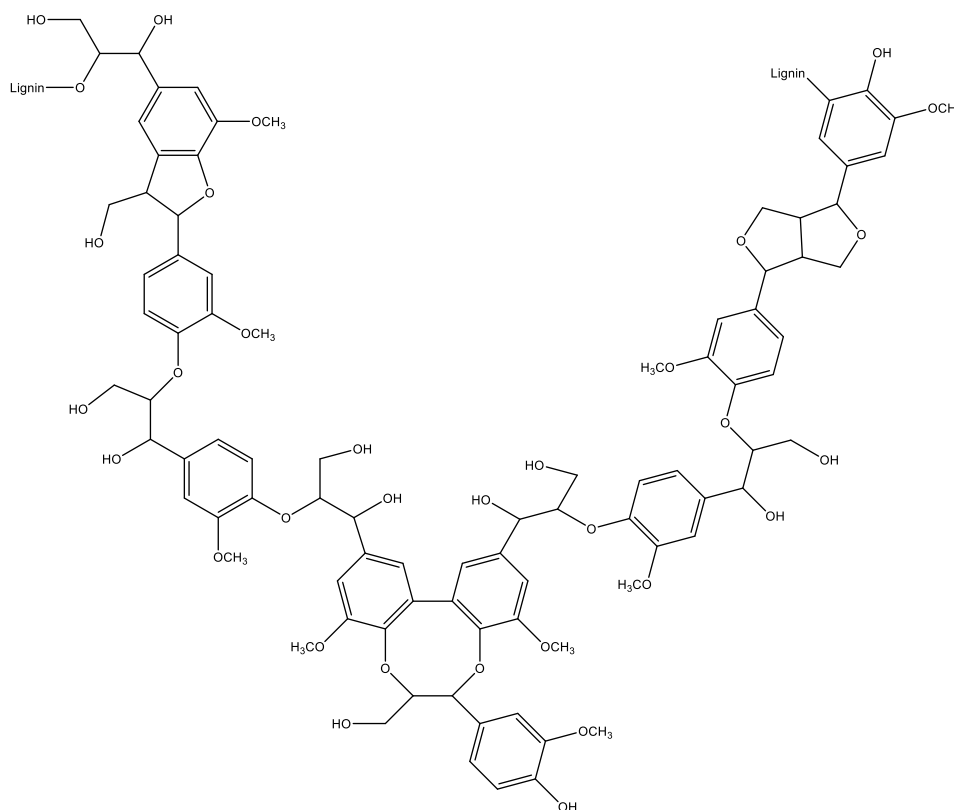


Figure I-19: Structure de la lignine

Les flavonoïdes

En effet, les flavonoïdes sont la principale catégorie de composés phénoliques. À ce jour, plus de 4000 de ces composés sont recensés, ce qui correspond à environ 50% des polyphénols. Les flavonoïdes possèdent une structure de base définie par 2 cycles benzéniques A et B associés par un cycle C représentant un hétérocycle pyranique (Figure I-20).[63]

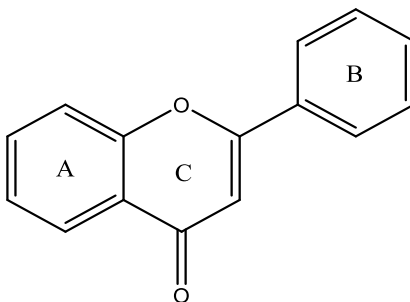


Figure I-20: Structure de base des flavonoïdes

Biosynthèse des flavonoïdes

Le processus de biosynthèse est basé sur un élément précurseur qui est la 4,2',4',6'-tétrahydrochalcone. La transformation de la chalcone en flavonoïde se produit par le biais de plusieurs stades tels que la méthylation, l'acylation et la glycosylation (Figure I-21). La clé enzymatique du processus de biosynthèse réside dans la chalcone synthase (CHS) en tant que catalyseur de la réaction de condensation des trois groupes acétate du malonyl-COA sur le 4-coumaroyl-COA. La mise en œuvre de l'isomérisation des chalcones par le biais de la chalcone isomérase (CHI) aboutit à la création de flavanones. Ceux-ci connaîtront soit une oxydation par la flavone synthase (FS) qui donnera des flavones, soit un processus de réduction grâce à la flavanone réductase (FNR) pour donner des flavanols. Par ailleurs, l'hydroxylation de ces flavanones par le biais de la flavanone-3-hydroxylase (F3H) permet d'obtenir des dihydroflavonols qui seront oxydés en flavanols par le biais de la flavanol synthase (FLS)[64,65]

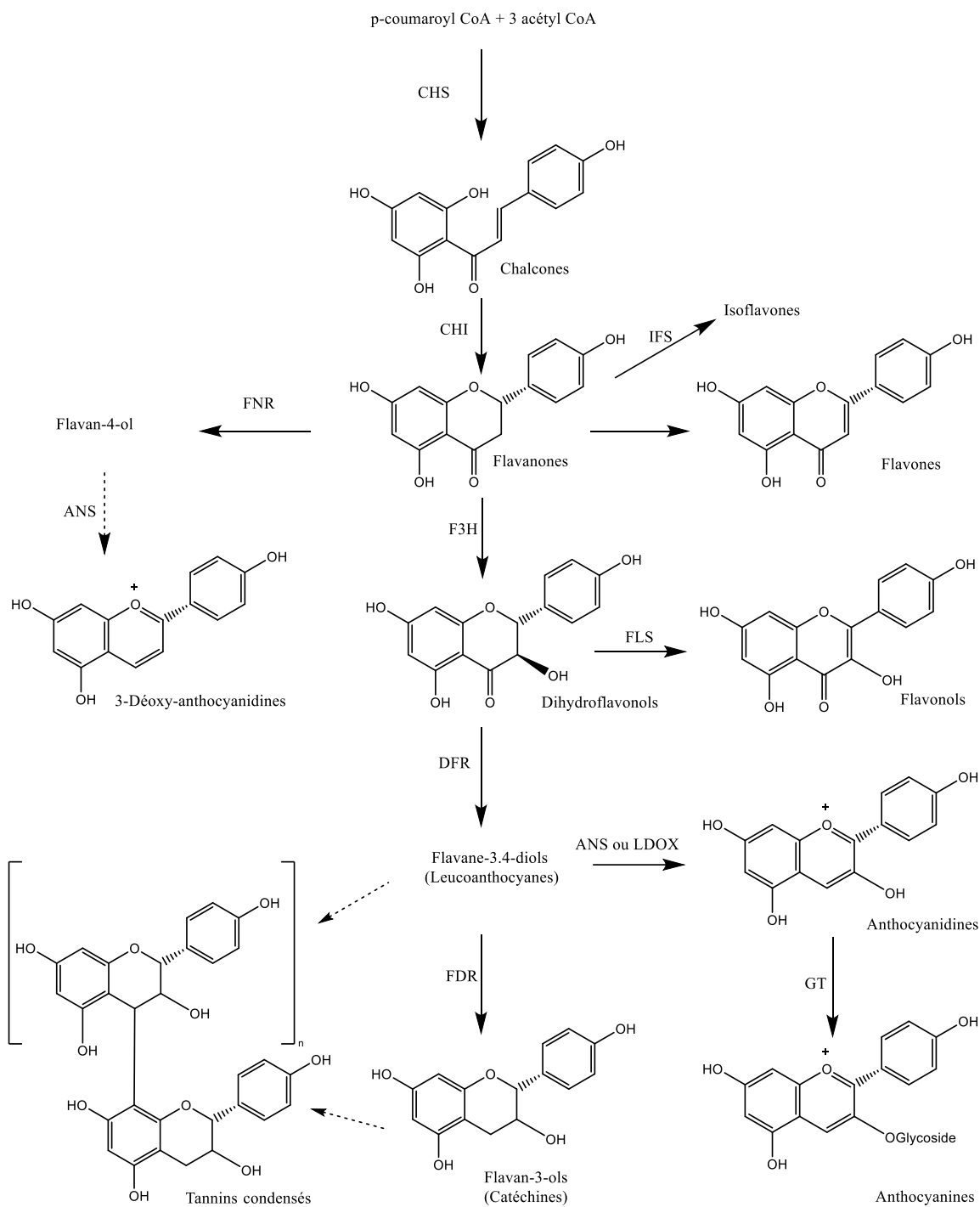


Figure I-21: Schéma illustrant la biosynthèse des flavonoïdes

CHS: chalcone synthase; FS: flavone synthase; CHI: chalcone isomérase; IFS: isoflavone synthase; F3H: flavanone-3-hydroxylase; FNR: flavanone réductase; FLS: flavanol synthase; ANS: anthocyanidine synthase; DFR: dihydroflavonol réductase; GT: glucosyl transférase.

Classification

Tel que le montre la figure I-22, on distingue de nombreuses classes de flavonoïdes qui dépendent du degré d'oxydation du cycle pyranique central[66].

Les flavones

Ils ont une structure $C_6-C_3-C_6$ comportant une liaison C_2-C_3 non saturée ainsi qu'une fonction cétone, telles que l'apigénine ou encore la vitexine (Figures I-22 et I-23).

Les flavanes

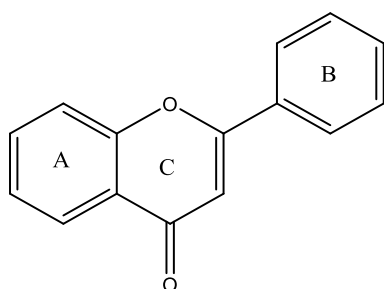
Ils correspondent à des composés comportant un hétérocycle C en position centrale saturée et ne possédant pas de fonction cétone. On trouve les flavanes dans l'écorce des végétaux[67]. Ils sont connus sous des formes monomères ou des polymères, avec par exemple la catéchine (Figures I-22 et I-23).

Les flavanones

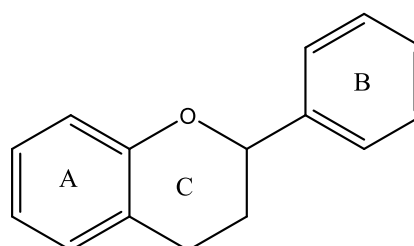
Ces dernières sont des flavones ayant un hétérocycle en position central saturé en C telles que la catéchine ainsi que la fustine (Figures I-22 et I-23).

Les flavonols

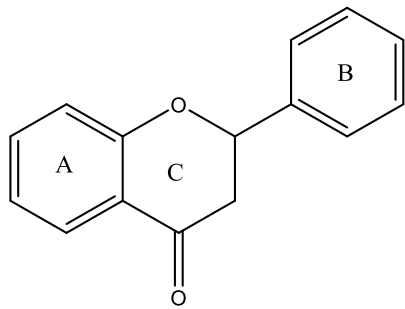
Ceux-ci sont des flavones qui se définissent par la présence en position 3 de l'hétérocycle central C d'un groupe hydroxyle (OH) tels que la quercétine, le kaempférol et la rutine (Figures I-22 et I-23).



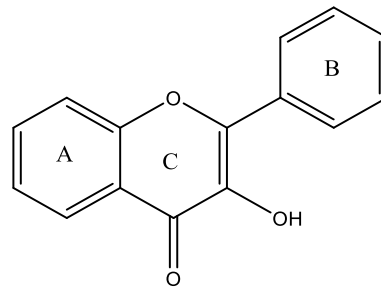
Flavone



Flavane

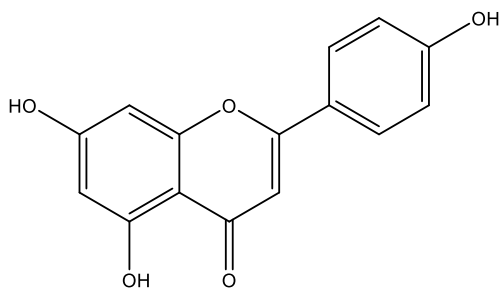


Flavanone

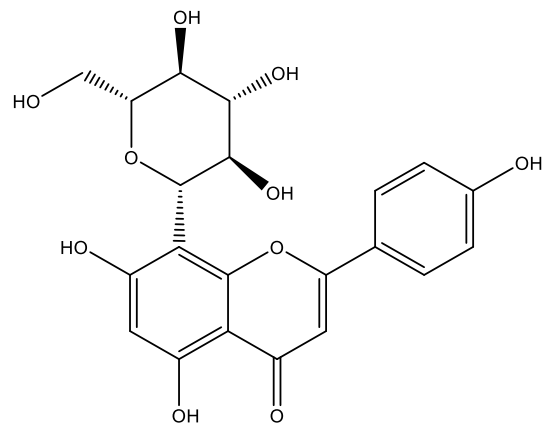


Flavonol

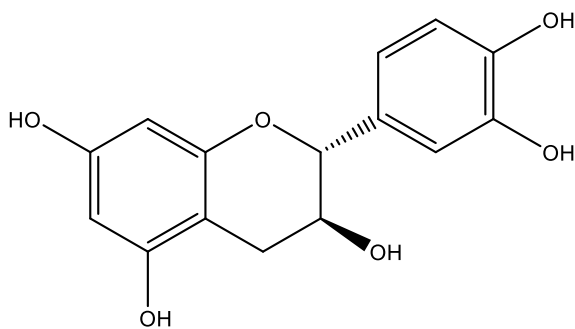
Figure I-22: Structure de quelques flavonoïdes



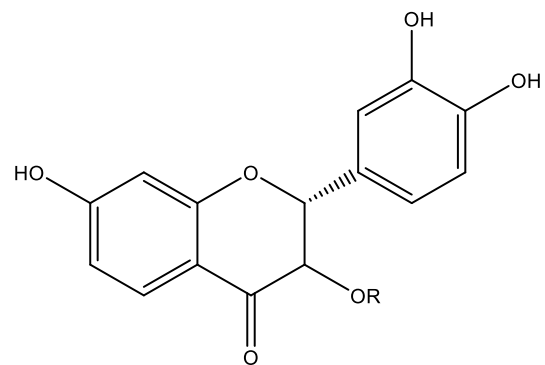
Apigénine



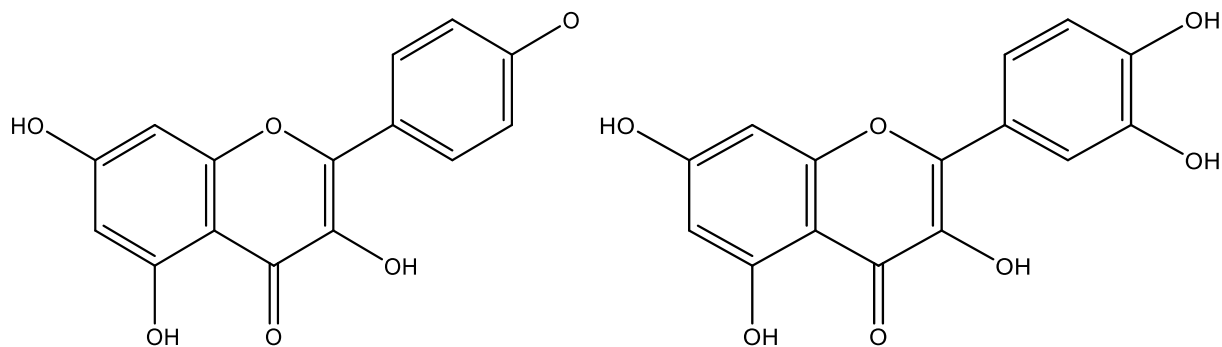
Vitexine



Catéchine

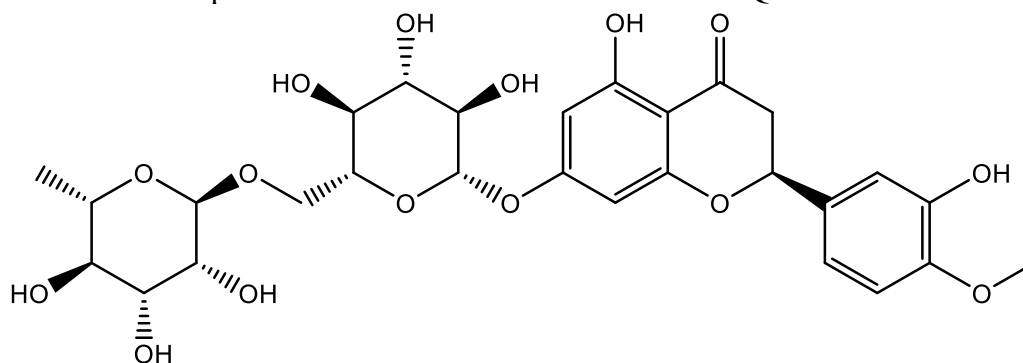


Fustine

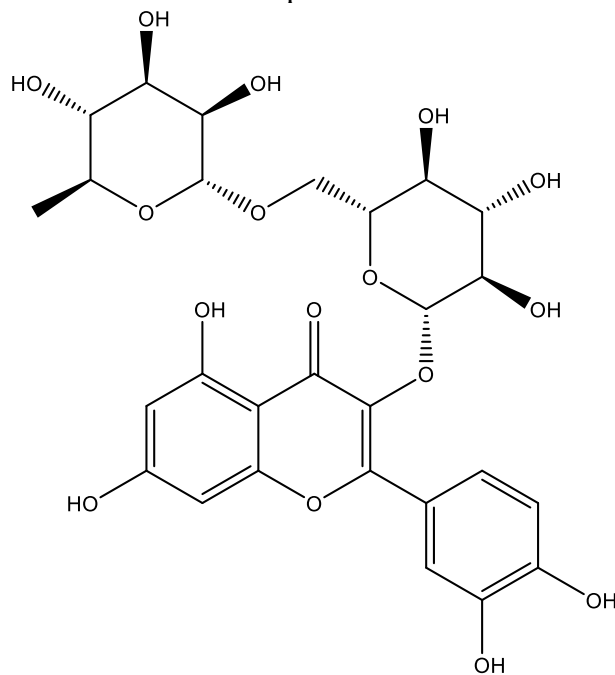


Kaempferol

Quercetine



Hesperidine



Rutine

Figure I-23:Exemples de quelque Flavonoïdes

Les anthocyanes

Les anthocyanines sont du type flavonoïdes dont la charge se situe sur l'oxygène de l'hétérocycle C situé au centre. Ces composés sont la base de la plupart des couleurs de type rouge, bleu et violets observés en pleine nature[68].

Les anthocyanines qui sont les plus réputées sont la pélargonidine, qui donne la couleur orange ou rouge à des plantes. La seconde anthocyanine parmi les plus connues est la cyanidine qui confère une couleur rose ou rouge et finalement la delphinidine qui donne la couleur violette[69] (Figure I-24).

Il convient de noter que la présence d'anthocyanes est directement mise en cause dans les interactions plantes-animaux et particulièrement dans l'attraction des pollinisateurs grâce à la couleur des fleurs[70].

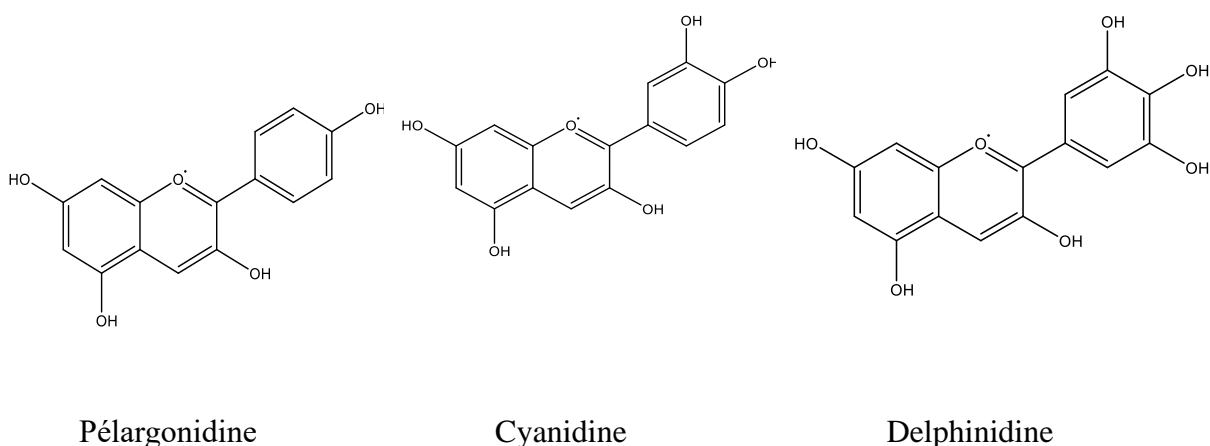


Figure I-24: Structure de quelques anthocyanes et leur identification dans la nature

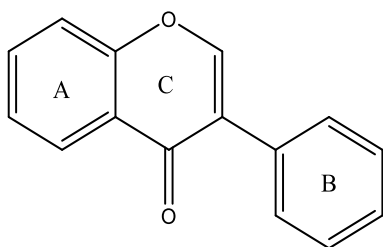
Les iso-flavonoïdes

Les isoflavonoïdes diffèrent des flavonoïdes en raison de la position C3 située sur l'hétérocycle pyranique en position centrale C du cycle aromatique B. Ils constituent des composés ayant 15 atomes de carbone tels que les flavonoïdes. Ils proviennent d'une structure 1,2-diphénylpropane[71]. Les iso-flavonoïdes sont principalement connus chez les fables et spécialement la famille des fabacées[72].

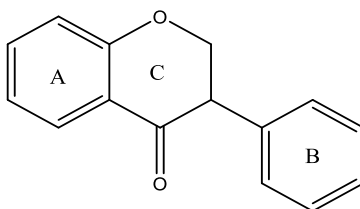
On classe ces composés à partir du degré d'oxydation et de la présence ou non d'hétérocycles additifs. On trouve ainsi les isoflavones, les coumaranochromones, les isoflavanones, les isoflavanols, les isoflavanes, les roténoïdes, les ptérocarpanes et les 3-arylcoumarines (Figure I-25).[73]

Du point de vue de leur biosynthèse, les isoflavonoïdes dérivent de la flavanone qui est un intermédiaire central, la 4',5,7-trihydroxyflavanone pour ce qui est de la génistéine ou la 4',7-dihydroxyflavanone dans le cas de la daidzéine. Par conséquent, la

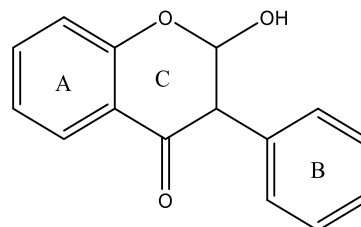
flavanone va connaître d'abord le départ d'un radical hydrogène au niveau de C₃ puis le déplacement du cycle B ainsi que la réaction d'hydroxylation du radical C₂. Cette transformation est réalisée par l'enzyme chargée de l'isoflavone synthase (IFS).[74]



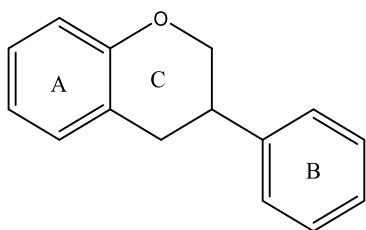
Isoflavone



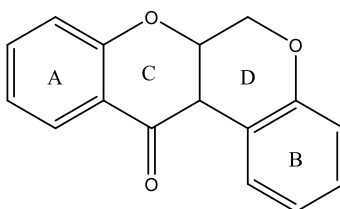
Isoflavanone



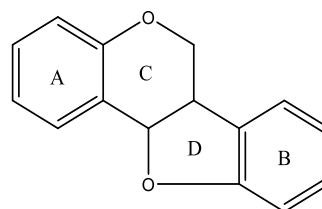
Isoflavanol



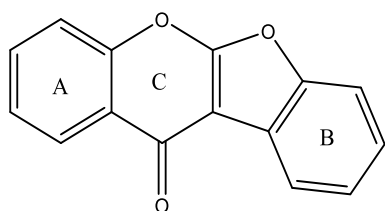
Isoflavane



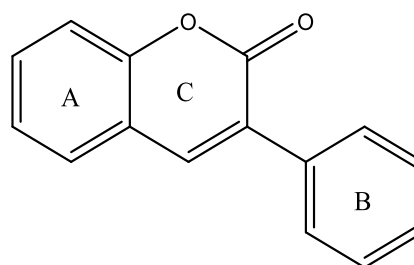
Roténoïde



Ptérocarpnae



Coumaranochromone



3-Arylcoumarine

Figure I-25: Structure des isoflavonoïdes

Les chalcones et les aurones

Les chalcones désignent un groupe de composés phénoliques ne possédant pas de cycle pyranique en position centrale C. De ce fait, ces composés présentent deux cycles aromatiques A et B raccordés par une chaîne tricarbonée cétonique α, β non-saturée

(Figure I-26). Comme exemple de chalcones : la pseudo-isocordoïne, la derricine, et l'orotinicalcone (Figure I-27).

Quant aux aurones, elles constituent des isomères structuraux de la gamme des flavones. Ce type de molécules dérivent des chalcones, le meilleur exemple connu restant la liptosidine (Figure I-28).

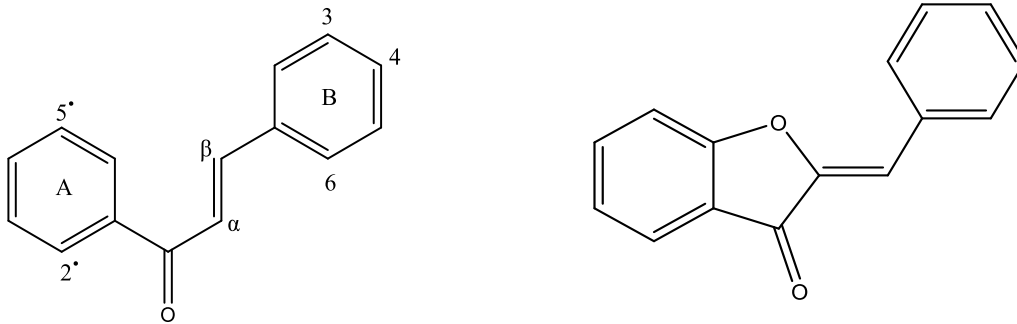


Figure I-26: Structure de base des chalcones et des aurones

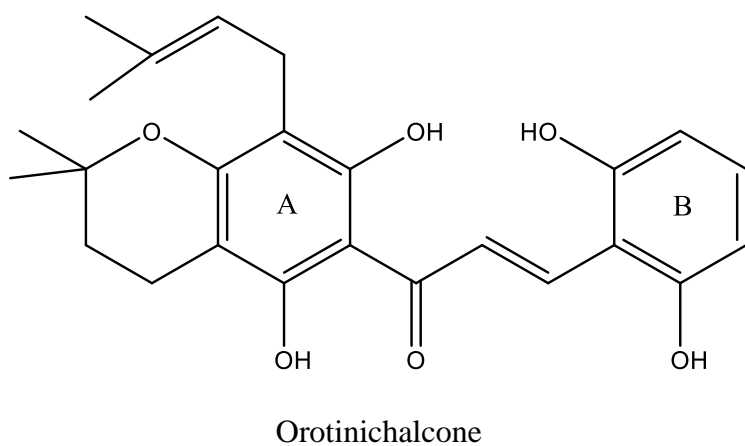
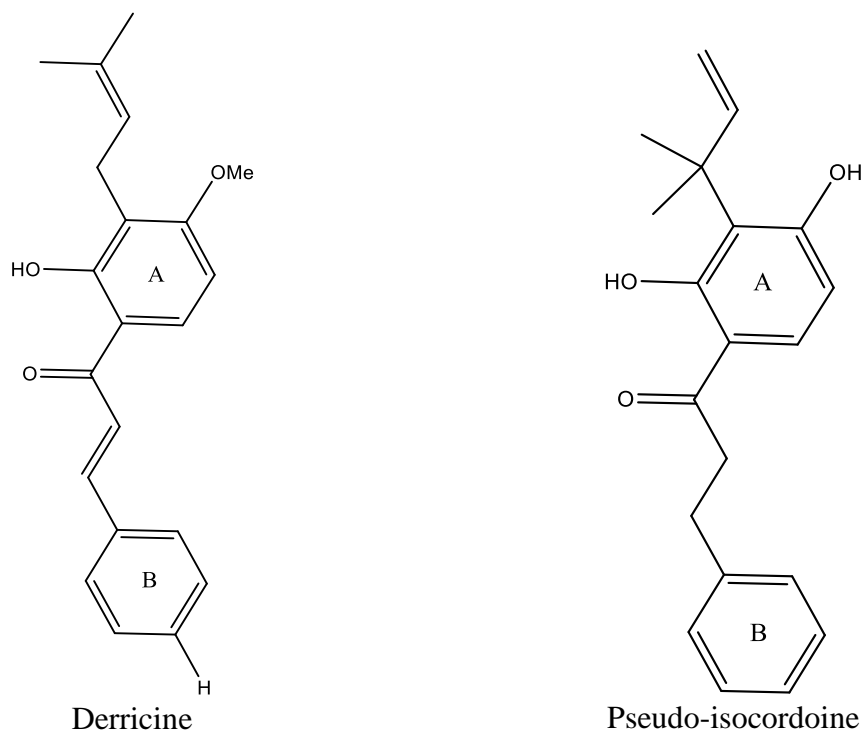


Figure I-27: Structure des quelques chalcones

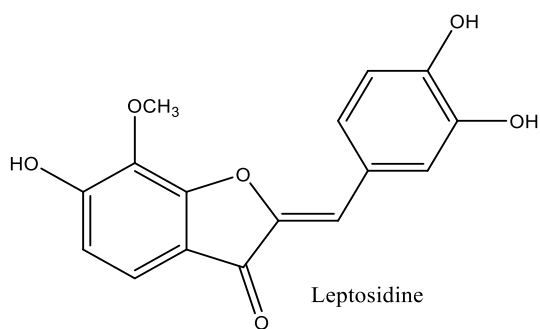


Figure I-28: Structure d'une aurone

Les Xanthones

Ceux-ci sont des composés ayant une base tricyclique très caractéristique, elle est constituée de deux noyaux benzéniques aromatiques encadrant un hétérocycle oxygéné. Les xanthones de végétaux supérieurs sont créées à partir de la cyclisation de benzophénones issue de la combinaison d'unités bicarbonate avec l'acide benzoïque obtenu à partir de l'acide cinnamique (Figure I-29). [74,75]

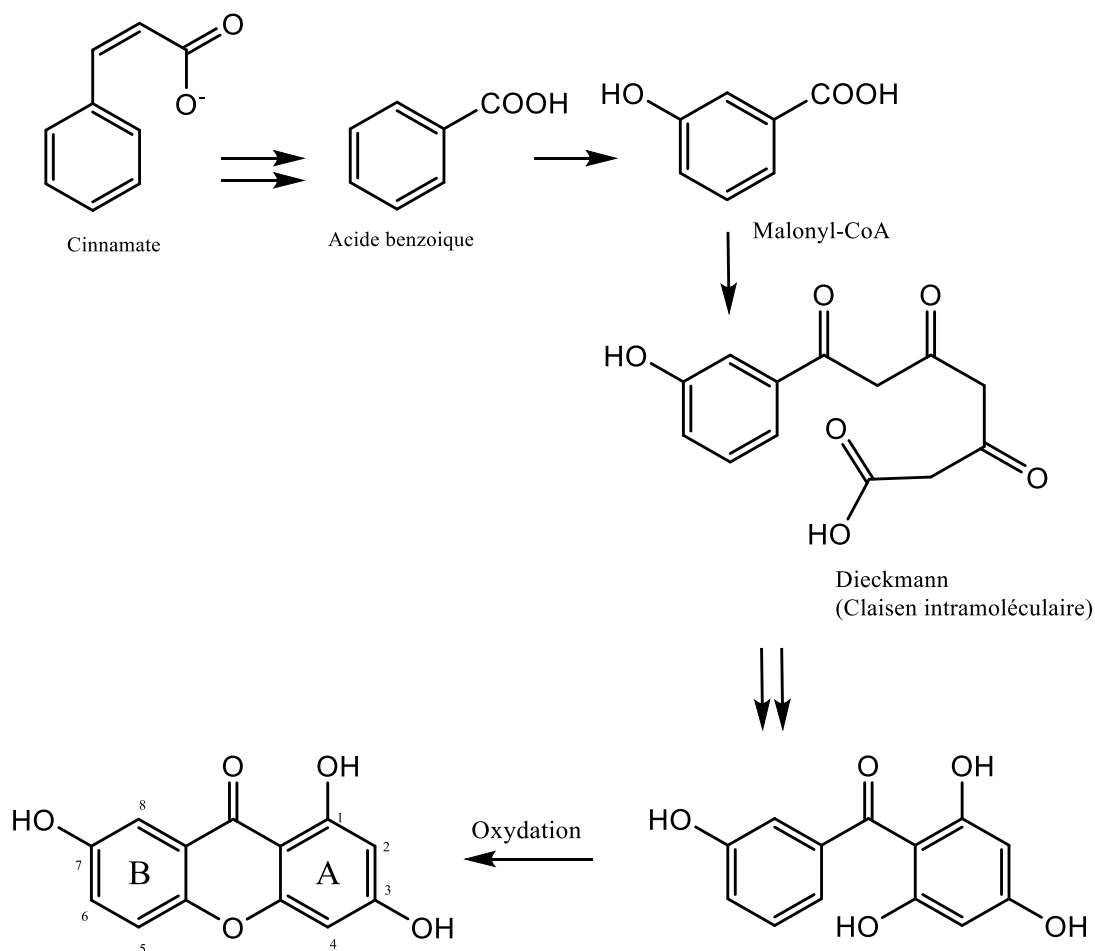


Figure I-29: Schéma de biosynthèse des xanthones

Les tannins

Les tanins désignent des espèces polyphénoliques qui sont employées pour tanner les cuirs. Les tanins présentent une multitude d'activités biologiques. Selon des études, de nombreux tannins possèdent des propriétés antioxydantes. En effet, ces substances disposent d'une grande capacité de fixation des radicaux libres ainsi que la désactivation des ions pro oxydants [76].

Par ailleurs, d'autres tanins exercent une activité antiseptique significative. Ceux-

ci montrent en effet des activités antibactériennes, antivirales et antifongiques assez impressionnantes[76].

Suivant leurs structures biochimiques, les tanins se subdivisent en deux types : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

Les tannins hydrolysables

Ce type de tanins est constitué de dimères d'acide gallique condensés à des dérivés glycosylés. Ceux-ci produisent, après avoir été hydrolysés à chaud avec des solutions acides étendues, un résidu glucidique (glucose) et un résidu polyphénolique tel que la brevilagine 1 et 2 [77](Figure I-30).

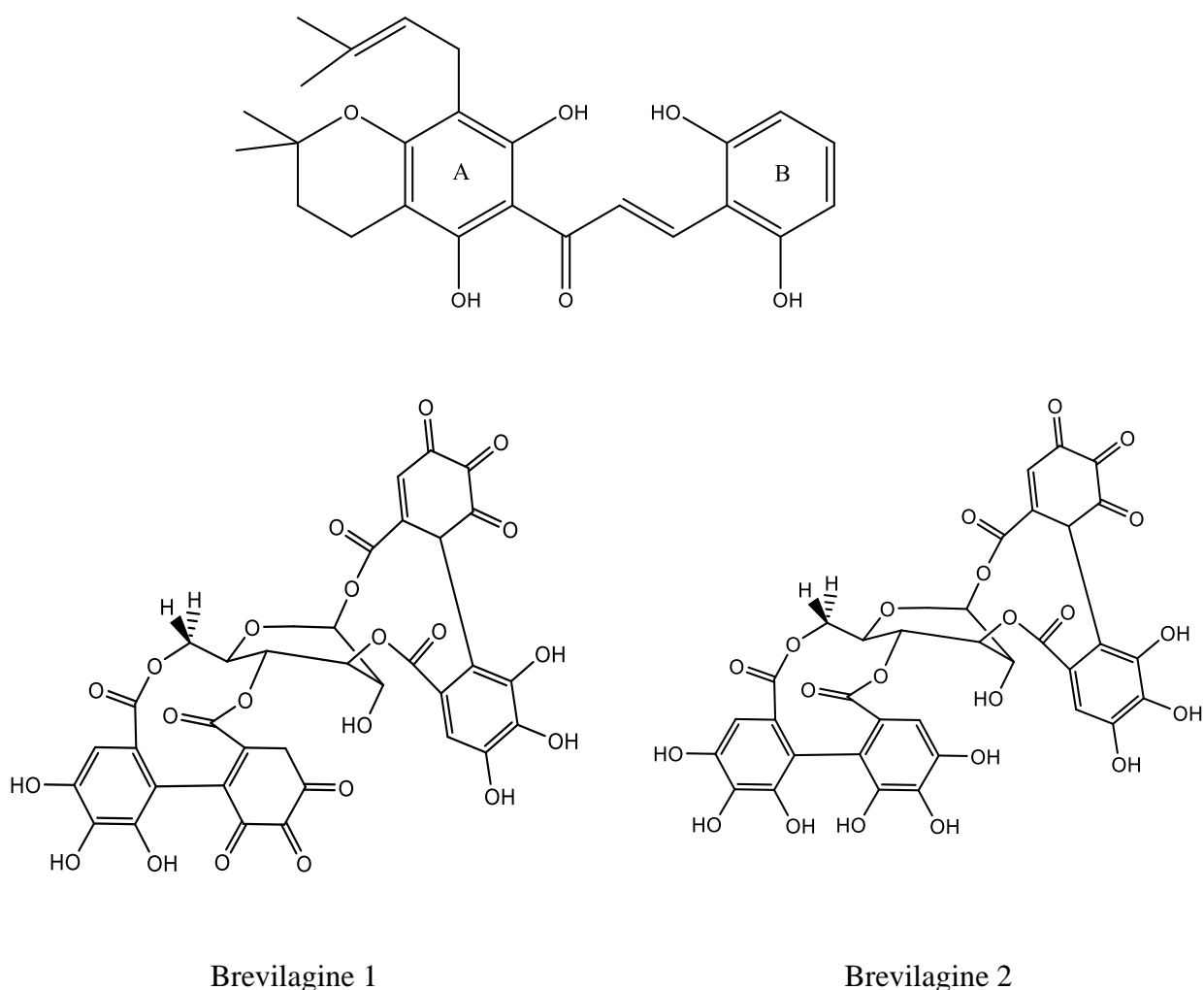


Figure I-30: Structure de quelques tannins hydrolysables Brevilagine

Les tannins condensés

Ce type de tanins est aussi connu sous le nom de pro anthocyanidines. Ces composés sont dotés de la structure de la molécule de base du flavan-3-ol ou de celui du flavan-3,4-diol[78]. Ces tannins ne présentent aucun sucre dans leurs molécules. Ils ne peuvent pas être hydrolysés en présence d'acides comme pour les tanins hydrolysables. En revanche, ils se transforment sous l'action d'un acide fort ou des agents oxydants et donnent des substances rouges qui constituent des phlobaphènes[79]. Les tanins condensés fournissent une structure dans laquelle le groupe hydroxyle OH sur le composé phénolique est capable de réaliser des liaisons aux protéines[80]; à titre d'exemple, la proguibourtinidine et la profisetinidine (Figure I-31).

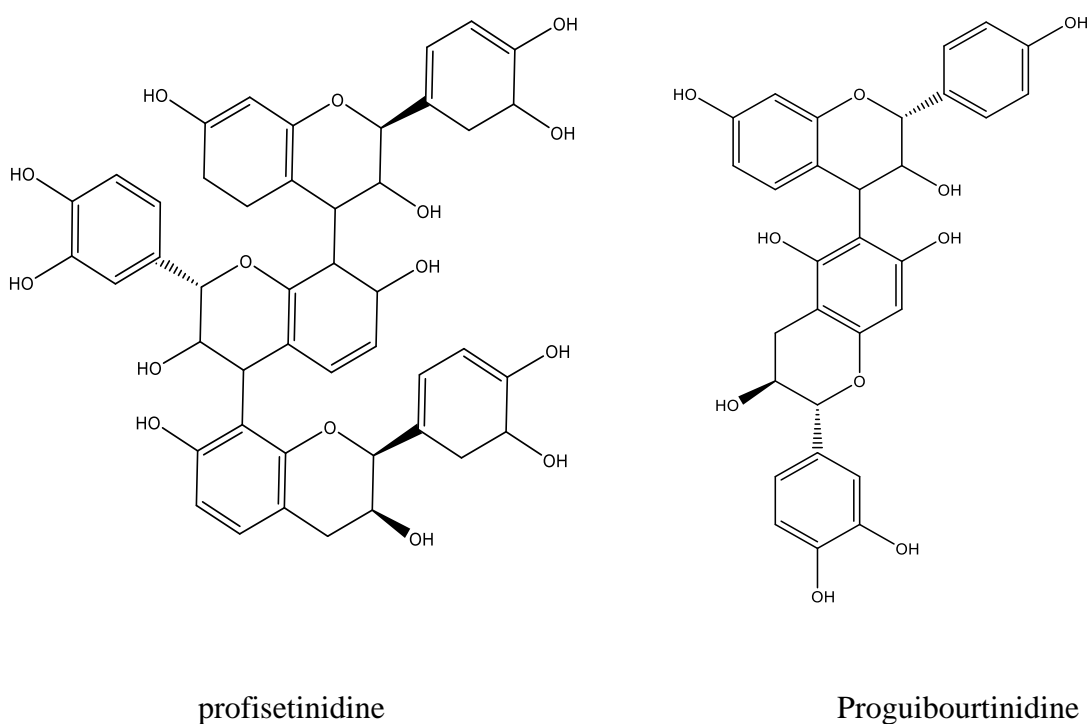


Figure I-31: Structure de quelques tannins condensés

I-3. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols pour leur part sont bien connus pour avoir des activités biologiques ayant un lien direct et immédiat avec la santé humaine. Par ailleurs, Halliwell (1994)[81] souligne également que les polyphénols sont réputés pour leurs propriétés antioxydantes. De plus, dans des conditions physiologiques, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont produites dans les mitochondries présentent une toxicité pour l'ensemble dans la cellule. Dans ce contexte, le pouvoir antioxydant exercé par les

polyphénols se manifeste par un captage direct des ROS, que ce soit dans la phase aqueuse ou la phase organique. Par ailleurs, ces polyphénols ont deux autres mécanismes d'action: Le premier est basé sur l'inhibition des enzymes pro-oxydantes ainsi que sur la chélation de certains ions métalliques tandis que le second est basé sur le renforcement des systèmes biologiques de lutte contre l'oxydation. Les travaux de Halliwell ont révélé que le pouvoir antioxydant des polyphénols est défini par leurs structures, et notamment par la position des radicaux hydroxyle sur les noyaux aromatiques ainsi que par la capacité de ces derniers à supporter la délocalisation électronique. Subséquemment, Fuchs (1998)[82] a révélé que les polyphénols possèdent des vertus connues dans la défense contre le stress cutané photo-oxydatif engendré par le rayonnement solaire, motifs pour lesquels les polyphénols font partie de plusieurs préparations cosmétiques pour le traitement du vieillissement cellulaire et pour la lutte contre le vieillissement cutané[83].

De nouvelles recherches révèlent que les polyphénols exercent une activité antibactérienne considérable[83]. Ces différents composés interviennent par deux mécanismes d'action : à savoir l'inhibition de la préparation des acides nucléiques chez les bactéries[84] et l'endommagement de la paroi cellulaire des bactéries[85].

Les polyphénols et tout particulièrement les flavonoïdes par exemple la quercétine, les xanthones, la gossypétine, l'épicatéchine-3-gallate et la myricétine se sont montrées être de l'acétylcholinestérase (AChE) qui constitue l'enzyme visée dans le traitement des maladies d'Alzheimer[86]. En effet, ces produits naturels interviennent en empêchant l'AChE qui va permettre de rectifier le déficit en acétylcholine et ainsi améliorer son niveau dans le cerveau. Par conséquent, le fait d'augmenter le niveau d'acétylcholine constitue le principal précurseur du programme de traitement de la maladie d'Alzheimer[87].

Huang et Lin (2012)[88] avaient déjà montré que les polyphénols permettaient également de faire chuter le taux de cholestérol présent dans le sang.

Quant aux flavonoïdes, ils ont permis de traiter des maladies du foie. Par exemple, un mélange de composés du genre flavolignane et flavanone dénommée silymarine, mis à l'épreuve sur un modèle animal expérimental, a prouvé qu'elle exerce un pouvoir positif sur les hépatocytes encore intacts et sur les éléments du foie endommagés de manières irréversibles[89].

Dans une autre étude, Martin et al (1994)[86] indiquent que les flavonoïdes ont une action anti-allergique. Ils interviennent par un effet d'inhibition des enzymes qui soutiennent la délivrance de l'histamine par des cellules impliquées notamment dans les réponses immunitaires : les basophiles et les mastocytes.

Les polyphénols ont aussi des activités anti-inflammatoires[90], ainsi que des activités antivirales, notamment anti-VIH[91].

Les flavonoïdes et plus particulièrement la quercétine, la naringine et l'hypolaetin-8-glucose isolée à partir d'espèces appartenant au genre *Sideritis*, ont une importante activité anti-ulcéreuse, puisqu'ils sont capables de défendre la muqueuse gastrique face à divers agents ulcérogènes[92].

Par ailleurs, d'autres études ont mis en évidence que les flavonoïdes ont des actions de protection vasculaire. Ceux-ci agissent sur les vaisseaux du sang sous la forme de leur activité vitaminique. Celle-ci est impliquée dans la préservation d'une perméabilité vasculaire saine[93]. Les flavonoïdes disposent d'une activité antidiabétique, ceux-ci, Ils agissent en inhibant l'aldose réductase du cristallin[94], par le biais de lamyrécétine qui possède des effets hypotriglycéridémiques et hypoglycémiant chez les animaux diabétiques[95].

Enfin, plus récemment, Mena et al. (2014)[83] ont révélé que les polyphénols issus d'extraits de plantes sont susceptibles d'être employés en chimiothérapie. Par ailleurs, selon d'autres études, le fait d'avoir une alimentation très riche en polyphénols et plus particulièrement en flavonoïdes réduit le risque de développer un cancer[96]. Donc, ces flavonoïdes pourront avoir une action en affectant la prolifération des tumeurs dès le début de la cancérogenèse en augmentant les processus de détoxification, à ce titre par exemple les flavonoïdes de citrus qui sont réputés être des empêcheurs de l'ornithine décarboxylase, facteur de promotion du cancer de la peau[97].

Activité antioxydante

En effet, des molécules prooxydantes dites radicaux libres ou des espèces réactives de l'oxygène (ERO) se créent tous les jours dans notre organisme. Toutefois, celles-ci sont régulées grâce aux antioxydants. On parle de stress oxydatif quand la balance est perturbée en profit des radicaux libres (Figure I-32). Néanmoins, une production trop

élevée de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants sont susceptibles de rompre la balance oxydants/antioxydants[90,98].

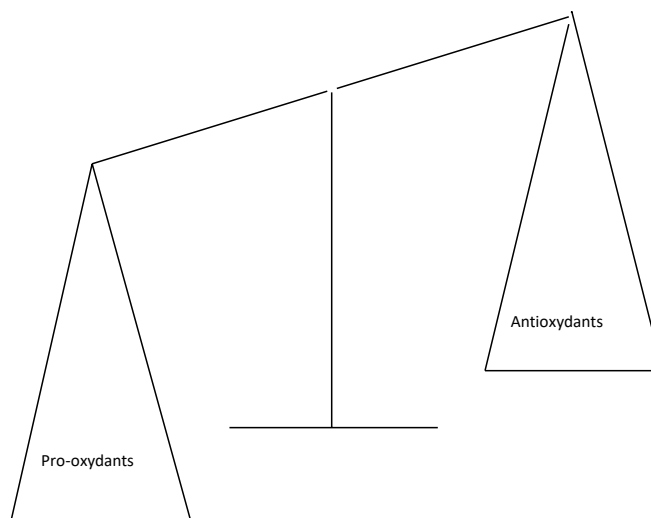


Figure I-32: Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.

Les origines de ce déséquilibre sont multiples : exposition à des rayonnements ionisants (forte exposition au soleil, radioactivité artificielle et/ou naturelle), contact avec des solvants et des pesticides, pollution, utilisation de tabac et d'alcool, pratique intensive du sport et tout processus pouvant surcharger les processus de détoxification hépatique, particulièrement une perte de poids notable[99].

Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Le terme "radical libre" signifie une espèce chimique, une molécule, un fragment de molécule ou un atome simple, qui peut avoir une existence indépendamment libre en contenant au moins un électron célibataire (électron non couplé sur une orbite). Cette particularité lui confère une très grande réactivité et donc une demi-vie très courte. Ces radicaux libres tendront en effet toujours à occuper leur orbitale en gagnant un électron pour être plus stables : ils se réduiront donc eux-mêmes en oxydant un autre produit[100].

Oxygène, espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Le corps a toujours besoin d'énergie pour bien fonctionner. En effet, les cellules convertissent les nutriments provenant de l'alimentation en eau et en énergie. Cette transformation engendre environ 2% de la production de molécules d'oxygène. Le dioxygène (Figure I-33) peut être nocif du fait de sa nature oxydante ; il provoque la

mise en place de dérivés encore plus réactifs dénommés espèces réactives de l'oxygène[101].

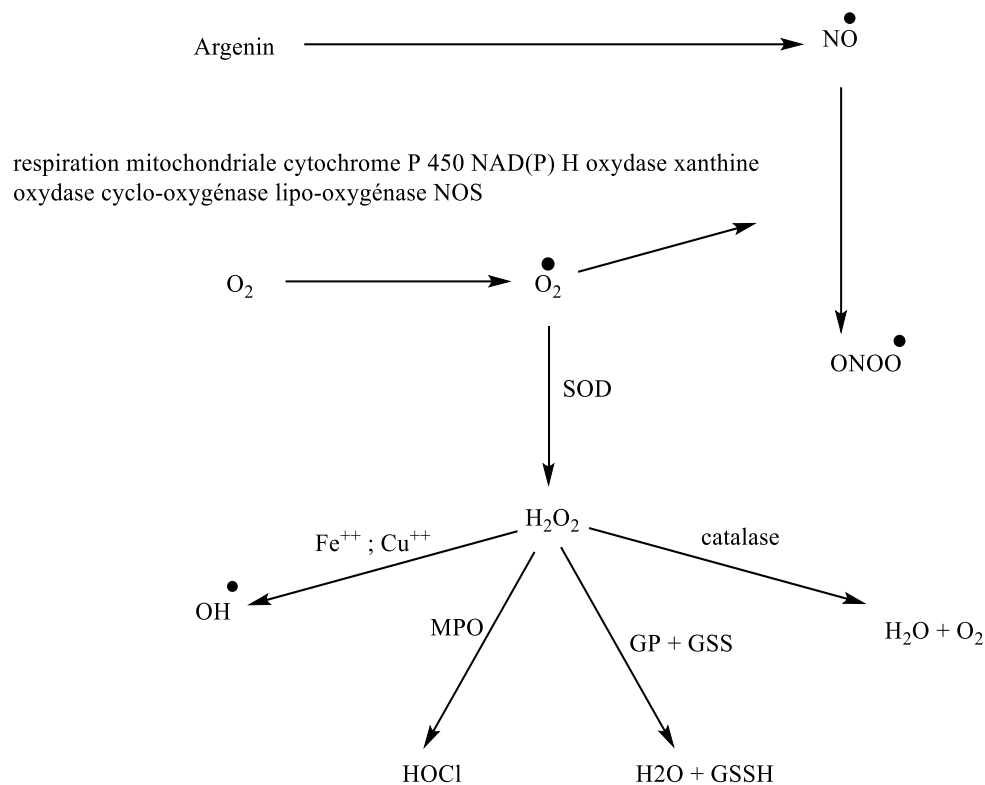


Figure I-33: Principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène

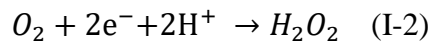
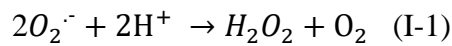
NOS= Oxyde nitrique synthase; MPO=méthylperoxydase ; SOD=superoxyde dismutase; GP=glutathion peroxydase ;GSSH= glutathion oxydé : GSS=glutathion réduit ; ; O₂•⁻= anion superoxyde ONOO• peroxydazote; H₂O₂=peroxyde d'hydrogène; HOCl= acide hypochlorite ;OH• radical hydroxyle;

Radical superoxyde (O₂•⁻)

Au sein de notre organisme, une portion d'oxygène moléculaire est en mesure de capturer de manière unique et séquentielle un électron menant alors à la création du chef de file des entités réactives de l'oxygène : à savoir l'anion superoxyde (O₂ + e⁻ → O₂•⁻) [102].

Peroxyde d'hydrogène H₂O₂

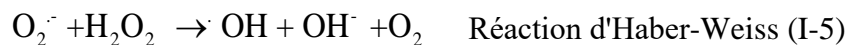
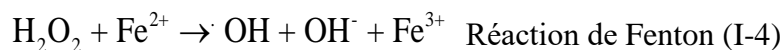
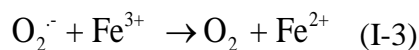
Peroxyde d'hydrogène H₂O₂ qui ne constitue pas un radical libre pouvant être produit de façon secondaire à la dismutation de (O₂•⁻) par de la superoxyde dismutase ou encore produit par de la réduction bivalente de l'oxygène par le biais d'un grand cortège de déshydrogénases, et en particulier l'acyl CoA déshydrogénase, la xanthine oxydase, la NADH déshydrogénase, la mono-amine oxydase l'uricase..[103]



De plus, le peroxyde d'hydrogène constitue un agent de réaction d'oxydation très vif, ce sur quoi il est fréquemment utilisé en tant que désinfectant et blanchissant. S'il n'est en effet pas rapidement éliminé, il risque de se décomposer et de générer des radicaux hydroxyles capables notamment d'attaquer les macro-molécules de la cellulaire[104].

Radical hydroxyle

Il est essentiellement généré à partir de l'anion superoxyde en présence d'ions ferriques, dans le cadre de la réaction de Haber-Weiss :



La réactivité du radical hydroxyle dans les milieux biologiques est particulièrement élevée. Il est en mesure de se " coupler " avec de multiples molécules grâce à une constante de vitesse de plus ou moins 10^9 à $10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Il est susceptible de réagir avec pratiquement tous les composants de la cellule par le biais d'échange d'électrons, par l'addition de doubles liaisons ou par le retrait d'un atome d'hydrogène, et constitue un oxydant très dangereux, certainement le radical libre le plus nuisible en biologie. Ainsi, le radical hydroxyle constitue un oxydant très fort, établissant certainement le radical libre le plus violent en biologie qui serait à la source de la génération de radicaux libres "secondaires", à la suite de sa réaction avec les différents composés de la cellule[105].

D'autres espèces réactives de l'oxygène

Les entités réactives à base d'oxygène incluent non pas seulement les radicaux libres de l'oxygène mais également les radicaux libres provenant d'espèces autres que l'oxygène, comme l'acide hypochloreux (HClO), l'oxyde nitrique - qui peut aisément se combiner avec $O_2^{\cdot-}$ afin de former du peroxy-nitrite ($ONOO^-$)[106], et un agent non

radicalaire qui peut être à la fois un agent oxydant et nitrosant.[107,108]

Origines cellulaires des espèces réactives de l'oxygène

Par ailleurs, les mitochondries (Figure I-34) représentent des organites situés dans le cytoplasme dans toutes les cellules eucaryotes. Ils forment une sorte de système de transport énergétique dans lequel toute l'énergie chimique présente dans les aliments peut être convertie, par phosphorylation oxydative, en phosphates hautement énergétiques (ATP)[109].

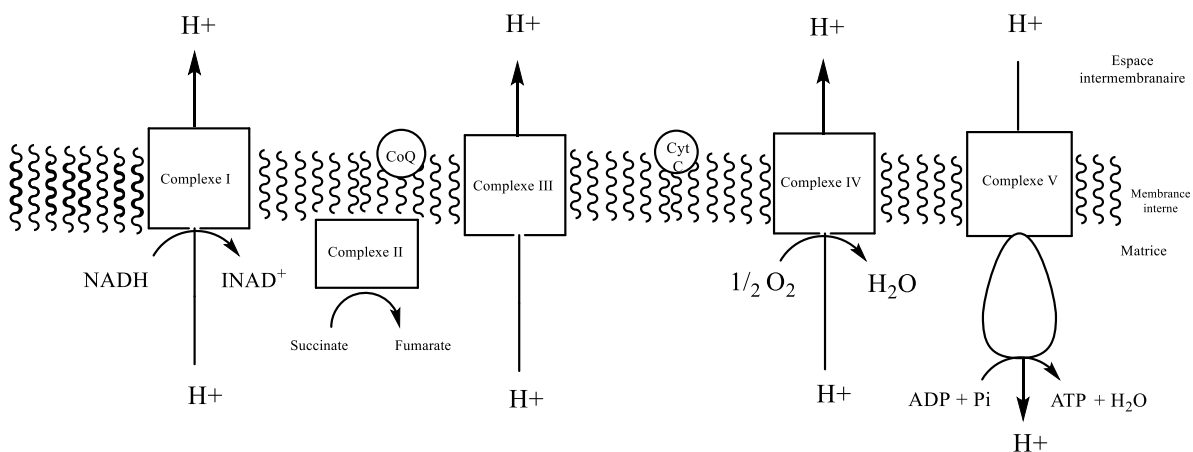


Figure I-34: Représentation schématique de la chaîne respiratoire mitochondriale

Ainsi, la mitochondrie est le site principal pour la synthèse des radicaux superoxydes[110]. Au cours de la respiration, le complexe IV de la chaîne respiratoire fournit quatre électrons aux oxygènes, cependant l'oxygène peut être soumis à une réduction en produisant des espèces réactives de type O₂⁻ et HO[•]. Ces espèces réactives sont nettement accélérées en cas de réduction du flux respiratoire, surtout lors de la survenue de maladies génétiques.

Conséquence du stress oxydatif

De plus, le principal danger des radicaux libres est dû aux dommages causés par leur capacité à réagir avec des composants de la cellule, notamment l'ADN[111], les protéines et les lipides (peroxydation). Ce phénomène d'oxydation provoque des dommages sur l'ensemble du corps, en accélérant le processus de vieillissement (maladies cardiovasculaires et cancer, neurodégénératives, diabète...) ainsi que la destruction des cellules et des tissus. La figure I-35 illustre un type de dégradation de l'ADN par les espèces réactives de l'oxygène[112,113].

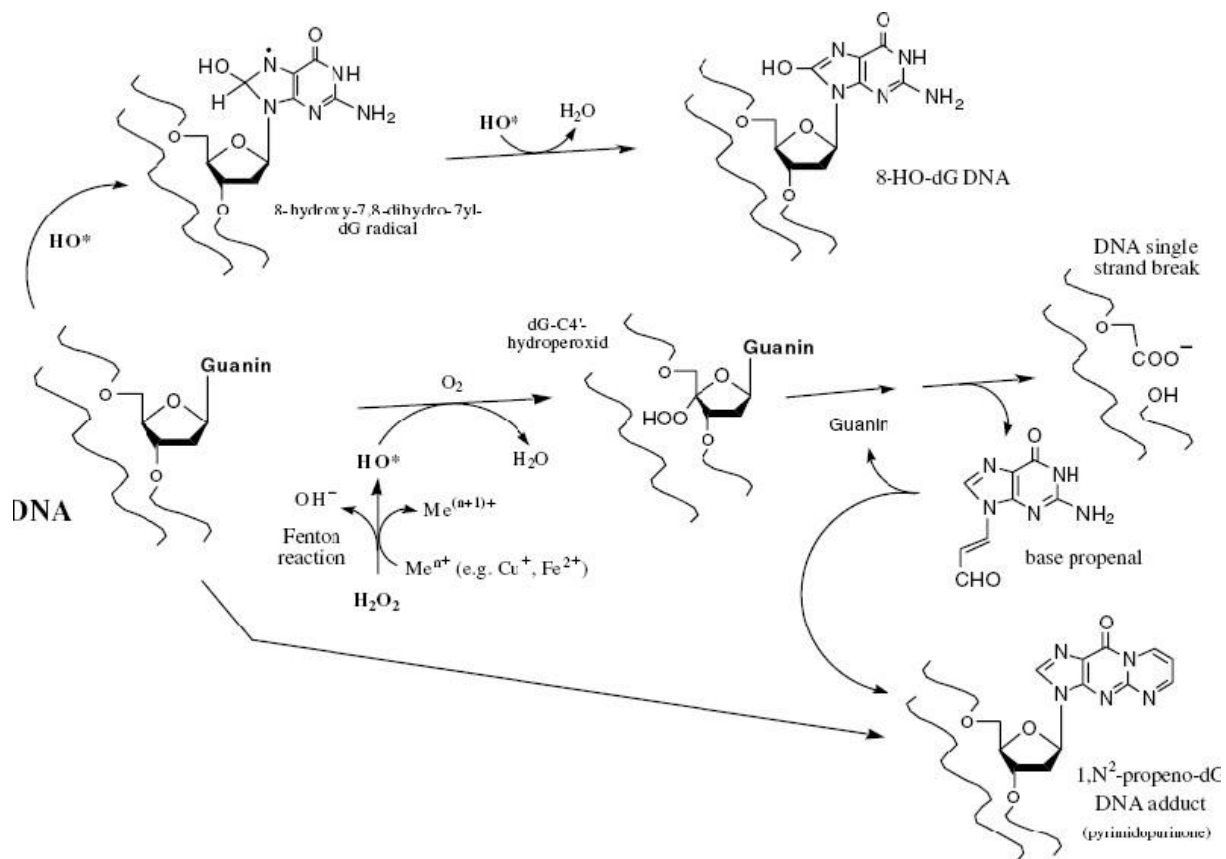


Figure I-35: Dommages causée par les ERO au niveau de l'ADN

Antioxydants et systèmes de défense

On peut définir les antioxydants comme étant toute substance capable, en présence d'une faible concentration relativement au substrat oxydable, de retarder ou de freiner le processus d'oxydation de ce substrat. La présente définition fonctionnelle englobe un grand nombre de matières, dont certaines enzymes aux propriétés catalytiques précises, ainsi que des petites molécules liposolubles ou hydrosolubles. La présence de cette grande variété physico-chimique explique la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de notre organisme, qu'ils apparaissent au stade intracellulaire, membranaire ou encore extracellulaire[113].

Antioxydants enzymatiques

Afin de lutter contre ces différentes attaques, les organismes ont développé des dispositifs d'action antioxydants qui ont pour but de :

1. Assurer l'élimination des espèces réactives de l'oxygène ainsi que des catalyseurs à leur origine.

2. Susciter la mise en place de la synthèse d'antioxydants.
3. Accroître l'activité des systèmes de réparation des molécules abîmées et de leur élimination.

Trois sortes d'enzymes antioxydantes interviennent dans la défense des espèces réactives de l'oxygène [114] comme indiqué dans la Figure I-36.

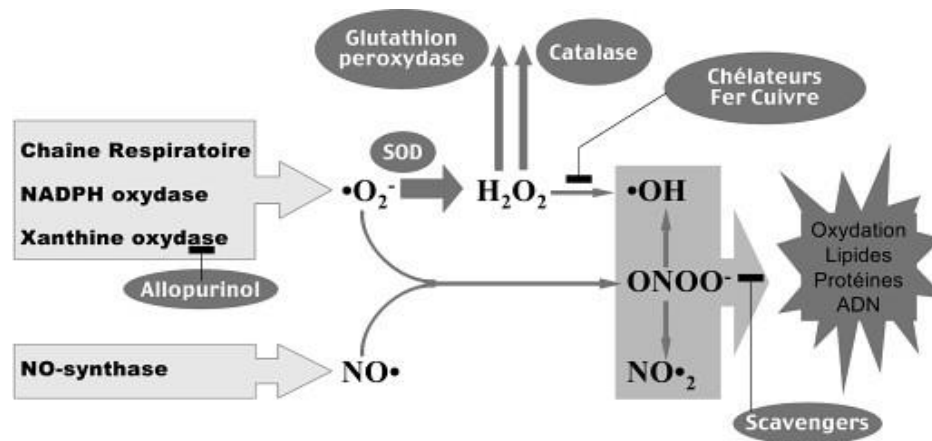


Figure I-36: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène

- Les superoxyde dismutases (SOD) se chargent de catalyser la décomposition de l'anion superoxyde et le transforme en peroxyde d'hydrogène [115]
- La catalase se charge de la dismutation du peroxyde d'hydrogène pour le transformer en eau, afin de permettre son élimination [116,117]
- La glutathion peroxydase (GPX) qui assure également la décomposition du peroxyde d'hydrogène en se servant du glutathion comme source d'hydrogène [118]. Antioxydants non enzymatiques

Ces substances sont des antioxydants de source naturelle susceptibles de contribuer à la prévention des dommages oxydatifs. Ils agissent comme des capteurs de radicaux libres par des interventions directes sur les molécules pro-oxydantes ou de manière indirecte, par la chélation des métaux de transition, ce qui prévient la réaction de Fenton. Cette catégorie d'antioxydants bénéficie d'un atout majeur par rapport aux antioxydants enzymatiques. Grâce à leur petit volume, ils sont capables de pénétrer facilement dans le cœur des cellules pour se concentrer à proximité des zones biologiques cibles. Cette catégorie d'antioxydants regroupe un grand nombre de produits hydrophiles

et/ou lipophiles et il est partiellement généré par l'organisme au cours de processus de biosynthèse. Toutefois, le nombre d'antioxydants qui sont produits in vivo demeure très restreint. Pourtant, le nombre d'antioxydants qui sont produits in vivo est très limité. Les agents les plus actifs sont : le glutathion, les dipeptides, le NADPH, l'acide urique, l'acide lipoïque ainsi que la bilirubine [169] – [171].

La capacité de ce système de défense dans le corps est principalement garantie par l'apport alimentaire. Les plus connus et les plus importants des antioxydants naturels de petit poids moléculaire se trouvent dans les catégories suivantes :

Acide ascorbique (Vitamine C)

Cette vitamine hydrosoluble est particulièrement sensible à la chaleur, à la lumière ultraviolette et à l'oxygène. Une fois ingérée, elle est immédiatement absorbée par le système sanguin, puis répartie de manière plus ou moins importante entre tous les tissus. Une consommation minimale quotidienne provenant de l'alimentation est donc impérative, qui provient majoritairement des fruits et végétaux frais [122].

En biologie humaine, de nombreuses fonctions physiologiques nécessitent la présence de vitamine C. La plus grande partie des plantes comme des animaux sont en mesure de la synthétiser à part le singe et l'homme à cause de l'absence de l'enzyme gulonolactone oxydase HOH [123].

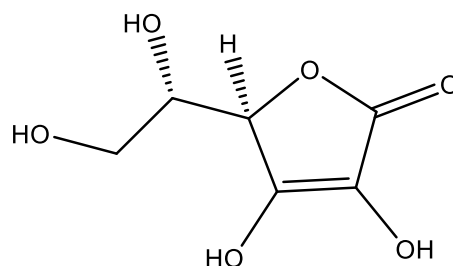


Figure I-37 : Acide ascorbique.

Il constitue un agent antioxydant hydrosoluble puissant, apte à piéger et neutraliser les entités réactives de l'oxygène à des concentrations très basses [124]. C'est un agent réducteur qui permet de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la reconstitution d'autres antioxydants tel que l' α -tocophérol [125].

Tocophérols (dont la vitamine E)

Ce sont des composés liposolubles, ils regroupent quatre éléments dont l'alpha-tocophérol, aussi appelé vitamine E, qui constitue le plus important antioxydant, le mieux armé biologiquement [126]

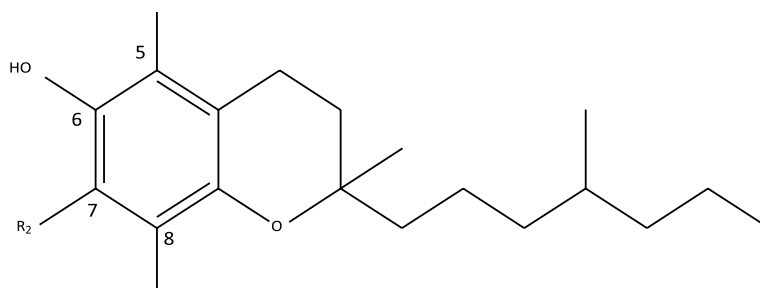


Figure I-38: Structures des tocophérols.

$R_1 = R_3 = \text{CH}_3, R_2 = \text{H}$	β - Tocophérol
$R_2 = R_3 = \text{CH}_3, R_1 = \text{H}$	γ - Tocophérol
$R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_3$	δ - Tocophérol

L' α -tocophérol est amplement exploré en tant que complément alimentaire susceptible de prévenir certaines maladies cardiovasculaires. Il participe à l'atténuation du stress oxydatif, aux manifestations des maladies neurodégénératives, et plus particulièrement à la maladie d'Alzheimer qui a bénéficié récemment de beaucoup d'intérêt. En outre, il freine l'adhésion des leucocytes sur les cellules endothéliales, ainsi que l'agrégation plaquettaire puis la formation de plaques d'athérome [127].

En effet, il est également présent dans les membranes ainsi que les organites cellulaires, où il contribue de façon significative à la limitation de la peroxydation des lipides, et il se concentre sur ces sites dans les cellules où la génération de radicaux d'oxygène est majeure [128]. Il neutralisera les radicaux peroxydes [129], les radicaux alkyles et les radicaux alcoyles [130].

Caroténoïdes

Ce sont des éléments pigmentaires produits par les plantes. Les principaux sont le bêta-carotène, ainsi que l'alpha-carotène. On trouve aussi la lutéine, le lycopène et la zéaxanthine. Ils confèrent aux fruits et aux légumes leurs teintes orange, jaune et rouge. Leur mission principale est de préserver les plantes. La majorité des caroténoïdes ont un pouvoir antioxydant.

Tout comme ils le font pour les végétaux, ils exercent des effets favorables sur

notre santé [131]. Grâce à leurs structures, ils constituent d'excellents capteurs d'espèces radicalaires, particulièrement en ce qui regarde la lipoperoxydation des phospholipides des membranes [132].

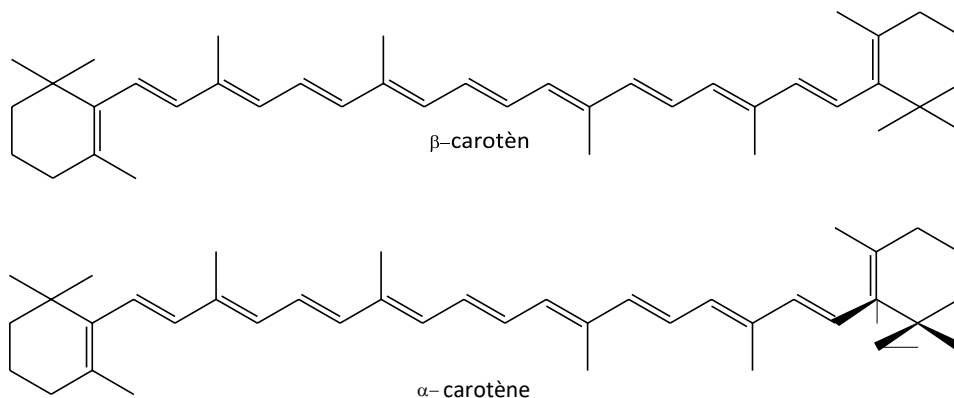


Figure I-39: Deux exemples des structures des caroténoïdes.

La plupart des caroténoïdes sont des polyols qualifiés par un système de doubles liaisons conjuguées. Le taux de double liaison conjuguée est compris entre 7 et 15 [133].

Antioxydants de synthèse

On trouve de multiples antioxydants synthétiques dont la base est souvent issue d'antioxydants dans la nature [134]. Afin d'être utilisés dans la pratique, les antioxydants requièrent les conditions ci-après : Ils doivent être non toxiques, ils doivent être hautement actifs à basse concentration (0,01-0,02%) et être présents à la surface ou dans la partie grasse de l'aliment [135]. Toutefois, ils doivent être toujours être considérés comme des corps non naturels dans le système biologique. Citons à titre d'exemple, les polyphénols de synthèse : Le 3,3',5,5'-Tétra-t-butyl-biphényl-4,4'-diol (Figure I-40) qui a manifesté un rôle préventif sur les éléments neuronaux [136].

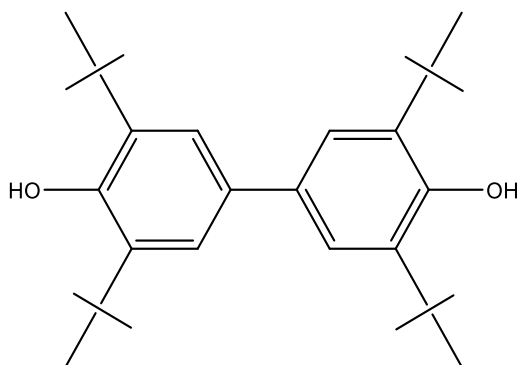


Figure I-40 : Structure chimique d'un polyphénol de synthèse. (3,3',5,5'-Tetra-t-butyl-biphenyl-4,4'-diol).

Ainsi que le dendrimère synthétique polyphénol syringaldéhyde (Figure I-41) qui a révélé une importante activité antioxydante conformément au test DPPH qui était deux fois et 10 fois plus puissant que celui de la quercétine et du trolox. En outre, ce polyphénol produit par synthèse a également montré un effet préventif sur les LDL humaines face à l'attaque des radicaux libres [137].

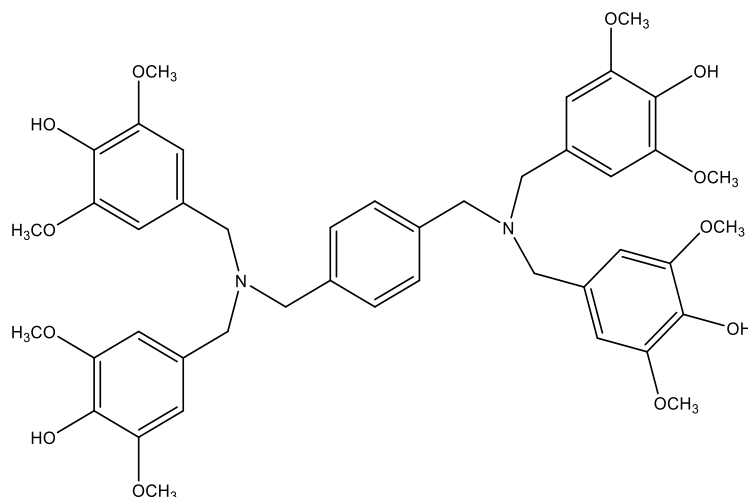


Figure I-41: Structure chimique d'un polyphénol de synthèse (dendrimère de syringaldéhyde).

Polyphénols naturels comme antioxydants

Sur le plan chimique, les composés phénoliques sont aptes à agir en tant qu'antioxydants [138–140] qui permettent de neutraliser les radicaux libres en faisant don d'un électron ou à un atome d'hydrogène (Figure I-42). De par leur structure, ils exercent une action antioxydante non moins importante. Les groupes hydroxyle présents dans les polyphénols sont effectivement des donneurs d'atomes d'hydrogène ; ils sont capables de réagir face aux espèces réactives de l'oxygène et à celles de l'azote, et enfin le cycle de production de nouveaux radicaux se trouve ainsi brisé.

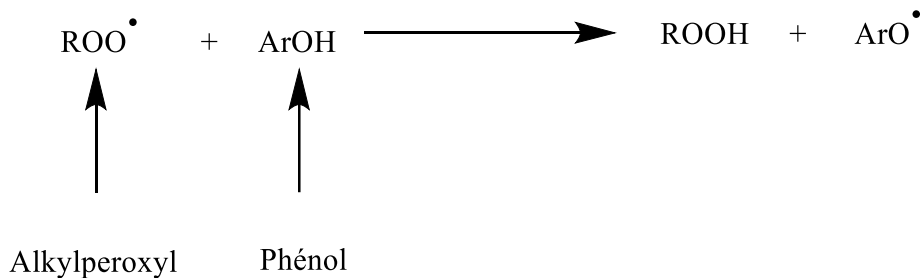


Figure I-42: Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène. Le radical formé devient moins dangereux.

Du fait des échanges avec l'espèce réactive initiale, la forme radicalaire du produit antioxydant est obtenu, avec une meilleure stabilité chimique que le radical initial. Grâce à l'interaction des groupes hydroxyles et des électrons de l'anneau benzénique, les molécules disposent de propriétés particulières, surtout la capacité de susciter des radicaux libres, qui se stabilisent par délocalisation. Le caractère antioxydant de ces derniers est également dû à leur capacité à complexer les métaux ioniques utilisés dans la production de radicaux libres. Néanmoins, les dérivés phénoliques peuvent se comporter comme des pro-oxydants [141].

En effet, les polyphénols ont recours à différents mécanismes :

- Une inhibition enzymatique ;
- Une chélation des ions métalliques ;
- Une capture des radicaux libres.

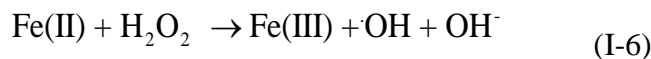
Inhibition enzymatique

Grâce à la diversité des fonctionnalités des phénols, ceux-ci interagissent si puissamment avec les particules protéiques que de nombreux complexes protéines-polyphénols se précipitent, entraînant ainsi leur emploi dans le processus de tannage du cuir [142]. Les interactions polyphénol-protéine ont été abondamment examinées in vitro, en particulier en ce qui concerne les flavonoïdes [143,144]. Pour clarifier le mécanisme de fonctionnement de l'activité inhibitrice des flavonoïdes, des travaux ont été réalisés au sujet de l'effet de la quercétine sur le processus d'oxydation de l'acide linoléique en présence d'une lipoxygénase. Pour ces auteurs, le mécanisme d'inhibition des lipoxygénases au moyen de la quercétine résulterait non pas de la complexation ou de l'oxydation de Fe^{2+} , en revanche, il s'agirait d'une inhibition irréversible issue de liaisons covalentes existant entre l'enzyme et les dérivés oxydés du produit quercétine (radical phénoxy ou quinone)[145].

Chélation des ions métalliques

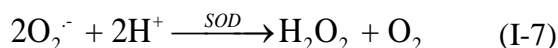
En effet, le cuivre ainsi que le fer libre (qui existe en excès général ou en excès localisé) produisent des radicaux hydroxyles extrêmement réactifs en partant de l'espèce peu réactive H_2O_2 , par le biais d'une réaction dite de Fenton [146]. Considérons par

exemple le fer qui se présente sous la forme de deux états d'oxydation distincts : celui des ions ferreux et celui des ions ferriques. L'ion ferrique (Fe^{3+}) constitue biologiquement la base inactive du fer. Toutefois, il peut se réduire à la manière sous forme active Fe^{2+} selon les différentes conditions, en particulier le pH. Il peut ensuite être oxydé par la voie de la réaction de Fenton décrite ci-dessous, qui génère des radicaux hydroxyle [147].

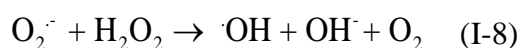


Ou provenant des réactions du cycle de Haber-Weiss avec les anions superoxydes. La génération de ces derniers peut conduire à un phénomène de peroxydation des lipides, à une altération des protéines ou encore à des détériorations de l'ADN [147].

Par ailleurs, la création de radicaux hydroxyles est également associée à la création d'anions superoxydes au niveau des cellules, qui se transforment en H_2O_2 et O_2 en raison de la participation de l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) conformément à l'équation suivante :



La réaction connue sous le nom de réaction de Haber-Weiss entre des anions superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ et du peroxyde d'hydrogène aboutit à la synthèse de radicaux hydroxyle $\cdot\text{HO}$ en vertu de la réaction :



Alors, lorsque l'anion $\text{O}_2^{\cdot-}$ se trouve pas capable de passer les membranes cellulaires et a une courte demi-vie, H_2O_2 se trouve plus stable et agit comme un second messenger qui peut passer les membranes et agit dans la signalisation à grande distance au sein des plantes [148]. Par ailleurs, le fait de chélater des métaux de transition comme le fer ou le cuivre a pour effet de bloquer la réaction de Fenton dans les environnements biologiques. Il en résulte un mécanisme de fonctionnement antioxydant [149]. Les flavonoïdes présents en abondance dans les végétaux et dans le régime alimentaire sont reconnus comme de puissants chélateurs pour les ions métalliques [150].

Attachement du fer par les ligands catecholates, gallates et semiquinone

Il est largement prouvé que les composés catéchol et gallol (Figure I-43) ainsi que certains dérivés fonctionnalisés (y compris la plupart des composés polyphénoliques) représentent des chélateurs de métaux efficaces.

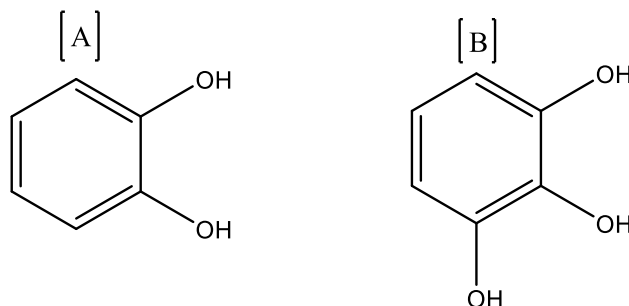


Figure I-43: Les structures du : (A) catéchol. (B) gallol.

Quand elles sont déprotonées afin de constituer une attache pour le métal, on désigne les fonctions catéchol et gallol sous le nom de groupes catécolate et gallate, respectivement. Ainsi, les ions métalliques qui privilégient la géométrie octaédrique, tels que les ions Fe^{2+} et Fe^{3+} sont à même de coordonner trois groupements catécolate ou gallate (Figure I-44) [151].

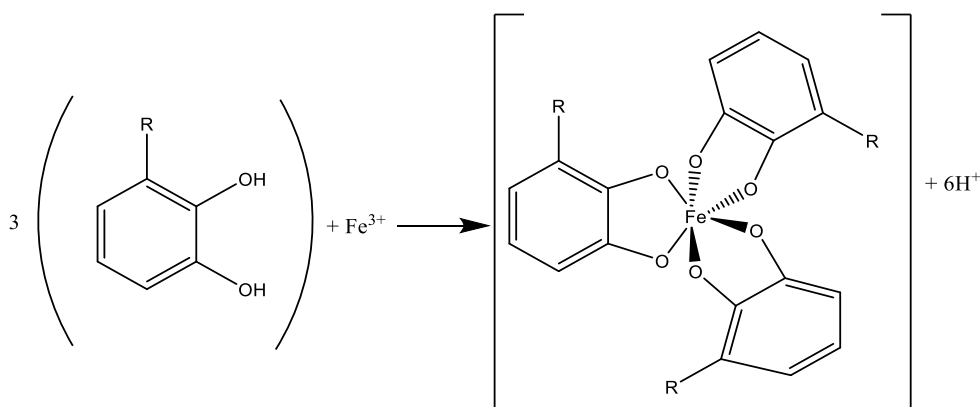


Figure I-44: La géométrie octaédrique de coordination prévue du complexe général du fer-polyphénol. Gallols, $R=\text{OH}$; catéchols, $R=\text{H}$. La Coordination

On peut donc s'attendre à ce que les polyphénols dotés de groupes catéchol ou gallol fassent toujours l'objet d'une liaison avec le fer conformément au mode 3:1 (Figure I-44). Néanmoins, puisque les polyphénols offrent une grande diversité structurale, ils pourraient donc montrer des modes de coordination variés. Comme la valeur de la constante pK_a varie entre 7 et 9 pour la majorité des hydrogènes acides et que les polyphénols sont aisément déprotonés au contact du fer, ceux-ci forment des complexes

extrêmement stables. Sachant que les ligands de type polyphénol permettent de stabiliser fortement les ions Fe^{+3} davantage que les ions Fe^{+2} , et donc les complexes catécholate et gallate avec les ions Fe^{+2} sont facilement transformés en présence d'oxygène O_2 pour former le complexe Fe^{+3} -polyphénol, phénomène généralement qualifié d'auto-oxydation (Figure I-45) [151].

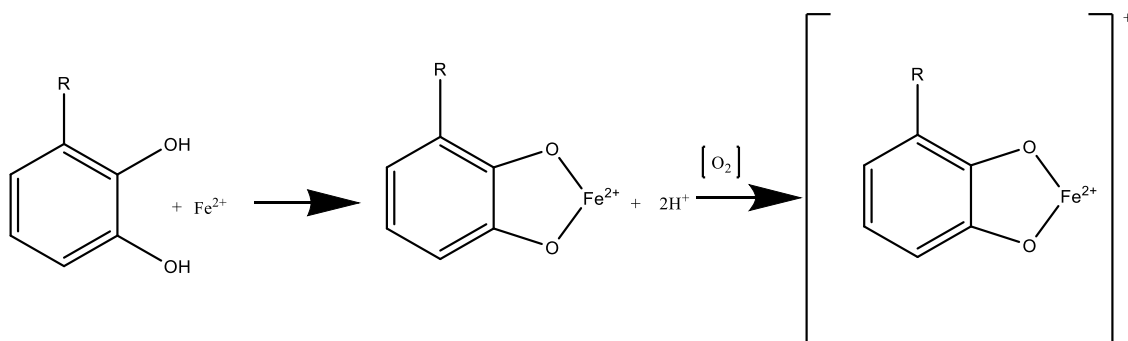


Figure I-45: Coordination de Fe^{+2} par des polyphénols suivant la réaction de transfert d'électron en présence de l'oxygène conduisant à la génération du Complexe Fe^{+3} polyphénol.

Réduction du Fe^{+3} par les ligands des polyphénols

Après fixation d'un ligand catécholate ou gallate sur Fe^{+3} , en effet, le polyphénol est capable de réduire le fer en Fe^{+2} . Au cours de ce processus, le polyphénol se transforme en semiquinone (Figure I-46).

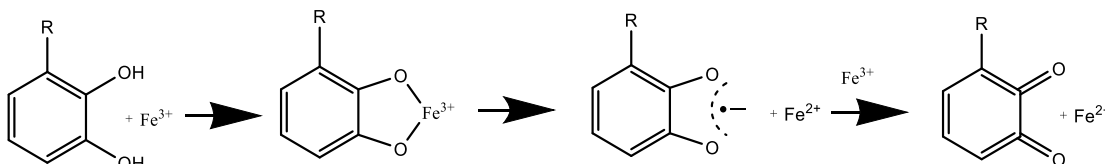


Figure I-46: Coordination de Fe^{3+} par des polyphénols conduisant à la réduction du fer et à la formation d'une semiquinone, et la réduction de Fe^{3+} forme une espèce de quinone et Fe^{+2} . $\text{R} = \text{H}, \text{OH}$.

À faible pH, le ligand semiquinone se protonise pour produire un ligand stable et neutre. Quand la forme semiquinone est produite, le polyphénol pourra réduire un autre équivalent de Fe^{+3} , en même temps que la semiquinone se transforme en quinone. Toutefois, ce mécanisme de réduction de l'excès de fer est souvent associé à l'activité antioxydante ainsi qu'à l'activité prooxydante des substances phénoliques [151].

Piégeage des radicaux libres

La propriété antioxydante des composés phénoliques repose sur leur capacité à neutraliser les radicaux libres et en particulier les espèces réactives de l'oxygène, le mode

opérateur utilisé étant radicalaire[152]. Ils interfèrent dans le processus d'oxydation au niveau des lipides et de nombreuses autres molécules en faisant un don rapide d'un atome d'hydrogène au profit des radicaux libres suivant un modèle proposé dès 1976 de Sherwin: En effet, l'antioxydant cède de manière formelle un radical hydrogène, qui peut correspondre à un transfert d'électron suivi, de façon plus ou moins rapide, par le transfert de proton, pour aboutir à un radical intermédiaire (Figure I-47). Celui-ci est stabilisé grâce à ses structures mésomères conjuguées[153].

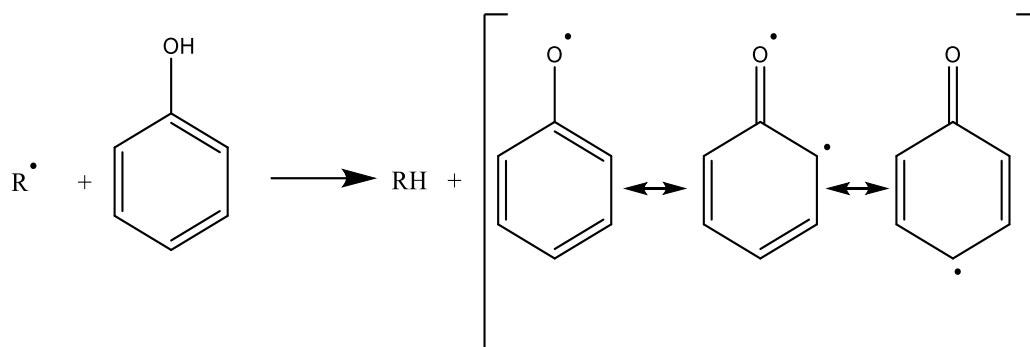
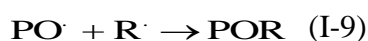


Figure I-47: Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.

Les radicaux phénoxy intermédiaires (PO^{\cdot}) font preuve d'une relative stabilité du fait de la résonance et par conséquent, il n'est pas évident d'initier une nouvelle réaction sous forme de chaîne [154]. Par ailleurs, ils peuvent intervenir avec d'autres radicaux libres en suivant la réaction :



Les composés phénoliques ont une structure chimique adéquate pour permettre le couplage des radicaux libres, dans la mesure où ils disposent :

- ✓ Des groupements phénoliques hydroxyles pouvant offrir un atome d'hydrogène et/ou un électron au radical libre.
- ✓ Un système aromatique de base stabilisé au moyen de la résonance [154].

En général, les flavonoïdes et surtout les flavan-3-ols constituent de bons agents d'élimination des radicaux libres[155]. Du fait de la disponibilité du 3',4'-dihydroxy et de la disposition du groupe o- dihydroxy (structure catéchol) au niveau du cycle aromatique B, ils possèdent la propriété de céder d'électrons. Par ailleurs, la mise en présence du 3-OH du cycle C joue également un rôle bénéfique au niveau de l'activité antioxydante de

ces flavonoïdes. La disponibilité de la double liaison C₂-C₃ conjuguée avec le groupe 4-céto permet la délocalisation des électrons du noyau B, ce qui renforce l'activité de captage des radicaux libres (Figure I-48)[156].

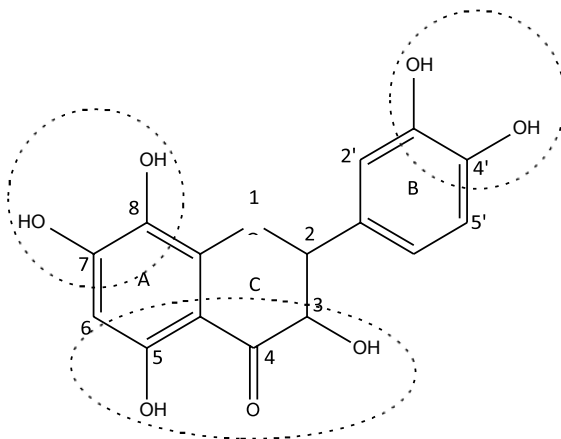


Figure 48 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée

I-4. Intérêts thérapeutiques des polyphénols

En effet, la plus grande caractéristique des polyphénols consiste à être des agents antioxydants très performants. Ils sont en effet capables de piéger les radicaux libres et de stimuler les autres antioxydants contenus dans l'organisme. Grâce à cette même activité antioxydante, les polyphénols permettent de réguler les bons et les mauvais radicaux libres, tels que l'oxyde nitrique, qui contribue à une bonne circulation sanguine, assure la cohérence entre l'activité du système de défense et celle du cerveau et régule la communication entre les neurones[157]. L'activité antioxydante des polyphénols peut se faire sur les transporteurs de lipides sanguins, en particulier sur le "mauvais" porteur de cholestérol (LDL ou lipoprotéine de basse densité). Ainsi, les polyphénols entravent la création de LDL oxydées, un phénomène qui se déroule dans différents états pathologiques marqués par le stress oxydatif[158]. Ils permettent de lutter efficacement contre l'inflammation et de diminuer la fragilité des capillaires, ils atténuent les effets de la maladie du diabète et préservent la peau contre les rayons ultraviolets en atténuant les dégâts causés par les rayons solaires[159]. Plusieurs études épidémiologiques indiquent qu'une alimentation contenant des polyphénols contribue à réduire le nombre de maladies chroniques[160].

Polyphénols et cancer

Un des aspects intéressants concernant les propriétés biologiques des polyphénols réside dans la lutte contre le cancer. Ainsi, un certain nombre d'études menées *in vitro* et *in vivo* ont révélé le rôle des polyphénols comme acteurs de la préservation de différentes maladies cancéreuses[161]. De multiples études ont mis en évidence que trois sortes de cancer (prostate, sein et digestif) sont fortement influencées par l'alimentation, plus particulièrement par la teneur en lipides et en antioxydants, et que grâce à sa richesse en polyphénols, la consommation d'huile d'olive pourrait favoriser la prévention de plusieurs cancers dont celui de la prostate[162]. Des travaux plus modernes ont montré les activités anti-carcinogènes de la curcumine de l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG) et du resvératrol dans le cadre du traitement du cancer du col de l'utérus[163].

Enfin, les effets inhibiteurs du thé vert et du thé noir en matière de traitement contre le cancer ont été amplement explorés. Les polyphénols du thé de la famille des flavanols-3-ols sont de puissants composés bioactifs qui agissent sur l'initiation, le développement ainsi que la progression du cancer en suivant des processus critiques[99]. Ils ont la possibilité de rompre ou d'inverser le déroulement de la cancérogenèse en influant sur les molécules du circuit de signalisation intracellulaire responsables de l'initiation et/ou de la stimulation du cancer, dans le but de stopper ou d'inverser son évolution. Les polyphénols sont susceptibles de stimuler l'apoptose au sein des cellules cancéreuses grâce à la modulation de divers éléments de signalisation cellulaire clés[164].

Polyphénols et maladies cardiovasculaires

En effet, différentes études épidémiologiques révèlent qu'il existe une forte corrélation entre la prise d'aliments riches en polyphénols et les risques de subir des maladies cardiovasculaires [165]. Ainsi, au niveau des artères, les polyphénols freinent l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) permettant ainsi d'éviter l'athérosclérose (épaississement de la paroi des artères qui conduit à une diminution du débit sanguin jusqu'à l'asphyxie des sites irrigués). De plus, les polyphénols bloquent l'agrégation plaquettaire impliquée dans le processus de la Thrombose, qui entraîne un blocage des artères. Par conséquent, en empêchant l'arthrosclérose ainsi que le risque de thrombose, ces molécules réduisent le danger d'infarctus du myocarde[157].

Conformément aux recherches épidémiologiques, une plus grande consommation de flavonoïdes extraits des fruits et légumes est associée à un risque plus faible de développer une maladie cardiovasculaire. Les mécanismes de cette observation ne sont pas clairs, mais les preuves suggèrent que les flavonoïdes exercent leurs effets en réduisant les facteurs de risque

cardiovasculaire. De récentes preuves suggèrent que plusieurs polyphénols sous leur forme purifiée, y compris le resvératrol, la berbérine et la naringénine, exercent des effets avantageux sur la dyslipidémie sur des modèles humains ou animaux. Ainsi, un traitement à base de naringénine a permis d'atténuer l'athérosclérose en corrigeant la dyslipidémie[166].

Polyphénols et inflammation

L'inflammation constitue la principale réponse de notre organisme à une éventuelle attaque et elle est régulée avec précision de manière à réduire les dommages potentiels aux structures de notre corps. Toutefois, une régulation inadéquate de ce phénomène peut aboutir à un état inflammatoire permanent. La grande majorité des pathologies chroniques possèdent une composante inflammatoire. Ceci est le cas de l'obésité, du diabète de type II, des maladies cardiovasculaires et de nombreux cancers. Les diverses approches menées sur les effets bénéfiques des polyphénols dans ces contextes pathologiques indiquent qu'ils réduisent les indicateurs d'inflammation et interviennent sur de multiples cibles moléculaires au cœur des voies de signalisation pour l'inflammation. De multiples études ont également révélé que les polyphénols et leurs métabolites servent de modulateurs pour les voies de signalisation de l'inflammation. Ainsi, des travaux menés chez l'homme en bonne santé ont mis en évidence qu'une nourriture riche en fruits et légumes est inversement corrélée avec les marqueurs de l'inflammation au niveau du plasma, et que la prise d'anthocyanes est corrélée à une baisse des teneurs en cytokines circulantes[167].

Des recherches récentes ont démontré que les flavonoïdes, notamment les flavonols, peuvent prévenir de la douleur musculaire en accélérant la réparation des tissus au niveau moléculaire. De manière spécifique, ils inhibent l'enzyme NOS responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique, qui est déclencheur chimique de l'inflammation. D'autres études, affirment l'action inhibitrice de ces flavonoïdes, plus particulièrement la lutéoline, l'apigénine, catéchine sur la cyclo-oxygénase enzyme synthétiques des molécules impliquées fortement dans le processus inflammatoire[168].

Polyphénols et maladies neurodégénératives

La plupart des maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson et celle de l'Alzheimer posent un problème de plus en plus sérieux lié aux pathologies liées au vieillissement du cerveau, essentiellement du fait que leur prévalence augmente avec l'âge. Ces pathologies neurodégénératives, et bien d'autres, semblent être le résultat d'événements multifactoriels parmi lesquels la neuro-inflammation, un accroissement du stress oxydatif, un épuisement du fer et/ou des antioxydants endogènes. Par ailleurs, la prise régulière d'aliments et/ou de boissons contenant des

flavonoïdes a été établie pour réduire de 50% en moyenne le risque de démence, maintenir les aptitudes cognitives avec l'âge, ralentir le début de la maladie d'Alzheimer et atténuer le risque de développement de la maladie de Parkinson. Les flavonoïdes sont susceptibles de protéger le cerveau de plusieurs façons, y compris en protégeant les neurones les plus vulnérables, en améliorant la performance neuronale existante ou en favorisant la régénération neuronale[169]. De multiples recherches d'intervention alimentaire effectuées chez l'homme ou chez l'animal avec des aliments ou des breuvages à base de vigne, de thé ou de petits fruits comme les myrtilles ont permis de constater des progrès au niveau de la mémoire et de la faculté cognitive. Toutefois, il apparaissait que les vertus antioxydantes des flavonoïdes présents dans ces denrées ne suffisent pas à elles seules à justifier leurs effets favorables sur le cerveau, notamment parce que la concentration en composés présents à ce niveau était relativement faible (Spencer 2008a). Il a en effet été proposé que les polyphénols pourraient agir sur les neurones vulnérables en les protégeant, en favorisant la fonction neuronale et la circulation sanguine, ainsi qu'en favorisant la neurogenèse[153].

I-5. Activité antibactérienne et antifongique

Il est bien connu que la lutte contre les infections bactériennes se fonde principalement sur l'utilisation d'antibiotiques. Or, la consommation à grande échelle de ces "médicaments" a conduit à la sélection de souches multirésistantes, d'où l'importance d'orienter la recherche vers de nouveaux substituts, notamment les plantes qui ont toujours été une source d'inspiration dans la recherche médicale[170].

Les infections bactériennes

Une infection bactérienne est un groupe de troubles provenant de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- locale, lorsqu'elle se traduit uniquement au niveau où les germes ont pénétré ;
- générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il passe dans le sang et est disséminé par celui-ci dans tout l'organisme ;
- focale : c'est l'infection focalisée dans les tissus ou organes où les germes sont amenés par la circulation sanguine. [171]

Rappel sur les bactéries

Une bactérie se définit comme un microbe constitué d'une seule cellule, perceptible au microscope, et faisant partie d'une zone de transition entre les règnes animal et végétal. En outre, comme toute cellule, les bactéries comprennent un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme renfermant des granulations et des vacuoles, une paroi et quelquefois une capsule. Quelques bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. En fonction de leur mode de nutrition et de leur attitude vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont réparties en aérobies et anaérobies.

Pour se développer, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur les conditions physico-chimiques favorables qui leur sont nécessaires et une nourriture couvrant leurs besoins énergétiques fondamentaux et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans les milieux élaborés par l'homme pour étudier les bactéries et sont donc appelés milieux de culture[172]

Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Staphylococcus aureus

Les staphylocoques en général sont des bactéries sphériques, qui se répartissent sur plusieurs plans pour former des grappes régulières ou irrégulières, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et se développent sur des milieux contenant 5% de NaCl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs. Les staphylocoques sont des germes ubiquitaires largement répandus dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils sont plus fréquemment et en plus grande densité sur les surfaces cutanées et muqueuses des mammifères. Il existe une certaine relation entre les espèces de staphylocoques et l'hôte qui les héberge. *Staphylococcus epidermidis* est l'espèce la plus fréquente et la plus abondante sur les surfaces cutanées humaines. *Staphylococcus aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et les autres mammifères, la cavité nasale de l'homme étant sa niche préférée. Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence dans le milieu hospitalier. L'espèce *Staphylococcus aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furoncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, staphylococcie bulleuse, etc.), mais aussi des os (ostéomyélite), du tube digestif (entéocolite post-antibiotique), des septicémies. *Staphylococcus epidermidis* est un agent de plus en plus fréquent des infections nosocomiales[172]

Pseudomonas aeruginosa

Ce groupe fait partie de la famille des Pseudomonadaceae. Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par des cils polaires, aérobies stricts. Les *Pseudomonas* se développent

facilement sur les milieux habituels, en aérobie, à la température de 30°C, certaines espèces comme *Pseudomonas aeruginosa* sont capables de se développer à 41°C et même 43°C ; cette caractéristique étant utilisée pour le diagnostic. La production de pigments est assez courante dans le genre. Deux d'entre eux sont particulièrement communs et utiles pour la reconnaissance des espèces : la pyocyanine, un pigment phénazinique, soluble dans l'eau et le chloroforme, spécifique de *Pseudomonas aeruginosa* ; la pyoverdine, ou pigment fluorescent vert, soluble uniquement dans l'eau et élaboré notamment par *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*. Ces bactéries sont capables d'utiliser une grande variété de substrats comme source de carbone et d'énergie. Il s'agit notamment des glucides, des lipides, des acides aminés, des acides organiques, mais aussi d'un grand nombre de composés aromatiques benzéniques, phénoliques, terpéniques, stéroïdiens. Dans le genre *Pseudomonas*, certaines espèces se distinguent, en raison de leur pouvoir pathogène opportuniste. *Pseudomonas aeruginosa*, l'espèce typique, est un germe ubiquiste que l'on trouve couramment dans le sol et encore plus dans l'eau, capable de se multiplier à 41°C, contrairement à *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. Fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou des animaux, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques. En milieu hospitalier, il provoque des surinfections et des suppurations locales ou profondes, isolées essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale (brûlés, cancéreux, etc.), et est très fréquemment impliqué dans des infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées, etc.). Il est également phytopathogène avec de nombreuses autres espèces du même genre [172].

Escherichia coli

Ce groupe comporte 5 espèces, mais *Escherichia coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes en fonction des antigènes présents. *Escherichia coli*, un hôte commun de l'intestin de l'homme (10⁸/g de selles), et des animaux ; à ce titre, il est recherché comme genre témoin de la contamination fécale, dans l'eau et les aliments. Au sein de l'espèce, il existe des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées) ; leur pathogénicité est induite par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *Escherichia coli* entéropathogène (diarrhée infantile), *Escherichia coli* entérotoxigène (tourista), *Escherichia coli* entéro-invasif (invasion des cellules intestinales), *Escherichia coli* entéro-hémorragique (diarrhée sanglante), *Escherichia coli* entéro-adhérent (diarrhée du voyageur). D'autres provoquent des méningites néonatales, des infections urinaires ou des septicémies qui correspondent à un nombre limité de sérotypes [172].

Proteus vulgaris

Ce groupe est caractérisé par leur grande mobilité, et sont probablement d'origine tellurique. Certaines espèces d'intérêt médical telles que *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* (anciennement *Proteus morganii*), peuvent induire des infections urinaires (dans 60% des cas d'infections urinaires), des infections cutanées (surinfections de plaies chirurgicales, de brûlures...), des infections des voies respiratoires (otite suppurée chronique, sinusite), et même des septicémies[174]

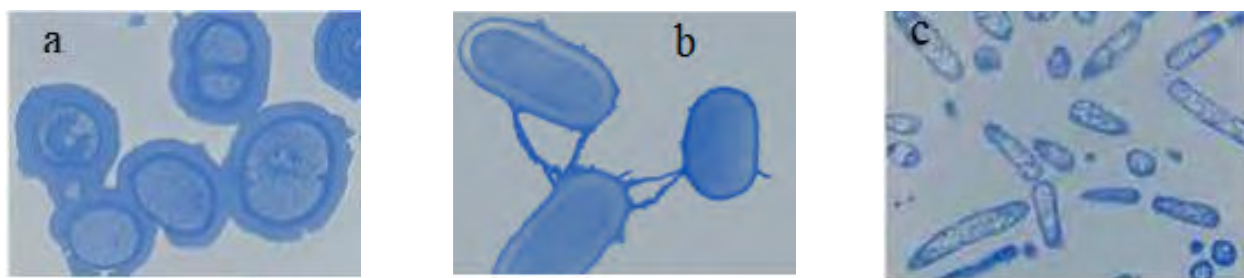


Figure I-49: Aspect morphologique des micro-organismes étudiés (Pieri et Kirkiacharian, 1992) (a) : *S. aureus* ; (b) : *E. coli* ; (c) : *P. aeruginosa*

Les antibiotiques

Pour de nombreuses raisons, il est apparu utile et, dans certains cas, indispensable de contrôler le développement des micro-organismes, car certaines bactéries sont hautement pathogènes pour l'homme ou l'animal et il fallait naturellement se protéger de leurs effets néfastes et empêcher la transmission de maladies infectieuses. Les bactéries ne sont pas seulement nuisibles pour l'homme et l'animal, mais d'autres produits, substances ou matériaux peuvent être détruits ou altérés par leur multiplication : détérioration des denrées alimentaires ; de nombreux monuments de grand intérêt historique sont dégradés (maladie de la pierre) ; les canalisations peuvent également être perforées. Il est donc devenu indispensable pour l'homme de lutter contre l'invasion des micro-organismes, de préserver ses biens, son potentiel industriel, son patrimoine artistique et de "protéger son existence même". Les moyens de lutte sont nombreux, les agents physiques (température, rayonnement...), les agents chimiques (métaux lourds, chlore et dérivés, alcools...) sont très actifs mais nocifs, tant pour les bactéries que pour les cellules humaines ou animales. Mais il existe d'autres agents, possédant une "toxicité sélective" : ils s'opposent à la multiplication bactérienne sans nuire aux cellules hôtes, et sont utilisés pour cette raison en thérapeutique, ce sont les "Antibiotiques"[172]

Principe de base de l'antibiothérapie

La prescription et la délivrance d'un antibiotique doivent être rigoureuses. Il est donc nécessaire de convaincre le patient de la durée, de la posologie et des précautions d'emploi de l'antibiotique (ATB). La décision et le choix de l'antibiothérapie sont basés sur un diagnostic clinique complété par des connaissances biologiques[175]

Résistance des antibiotiques

La résistance d'un germe peut se produire, si le germe appartient à la même espèce (résistance naturelle) alors la résistance acquise n'est présente que dans certaines souches. La résistance acquise d'une espèce bactérienne à un antibiotique se développe au fur et à mesure de l'administration de l'antibiotique. Elle se traduit par une augmentation de la concentration minimale inhibitrice. Dans 10% des cas, cette résistance acquise est due à des modifications génétiques de la bactérie, alors que dans 90% des cas, cette résistance est due à l'acquisition de plasmides qui sont des molécules d'ADN présentes dans le cytoplasme des bactéries. Le transfert des plasmides se fait par conjugaison, par mobilisation ou par transformation. La résistance aux plasmides permet aux bactéries de développer des enzymes capables de détruire la molécule antibiotique, par exemple les β -lactamases pour les β -lactamines, les adénylases-acétylases-phosphorylases pour les aminoglycosides, les tétracyclines et les sulfamides. Cette résistance des germes aux antibiotiques explique l'importance de l'antibiogramme, qui permet de choisir l'antibiotique le plus efficace pour un germe donné, et l'identification des germes multirésistants dont la dissémination doit être évitée dans les hôpitaux[176]

Mécanisme d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne. La paroi est constituée de mucopeptide. Les antibiotiques bloquent la transpeptidase qui intervient pour synthétiser la paroi des cellules filles en provoquant la formation d'une paroi incomplète conduisant à l'éclatement de la bactérie. Exemples : β -lactamines, bacitracine, vancomycine.

Sur la structure de la membrane cytoplasmique Les antibiotiques entraînent une modification de la membrane cytoplasmique et sa dissociation, ce qui provoque une fuite du cytoplasme. Exemple : polymyxine et colistine.

Sur la synthèse des protéines bactériennes L'ADN du noyau communique à l'ARN messager (ARNm) le code pour la synthèse des protéines. Cet ARNm entre en contact avec le ribosome qui rencontre l'ARN de transfert (ARNt) qui apporte les acides aminés. Certains antibiotiques

interdisent la libération de l'acide aminé par l'ARNt. Exemple : les tétracyclines.

D'autres perturbent la lecture du code de synthèse sur l'ARN messager. Exemple : les aminoglycosides. Le chloramphénicol empêche l'enzyme qui permet aux acides aminés codés de s'assembler en polypeptides utiles. Sur l'ADN nucléaire, ces antibiotiques interviennent en interférant avec la réplication de l'ADN. Exemple : rifamycine, acide nalidixique[177]

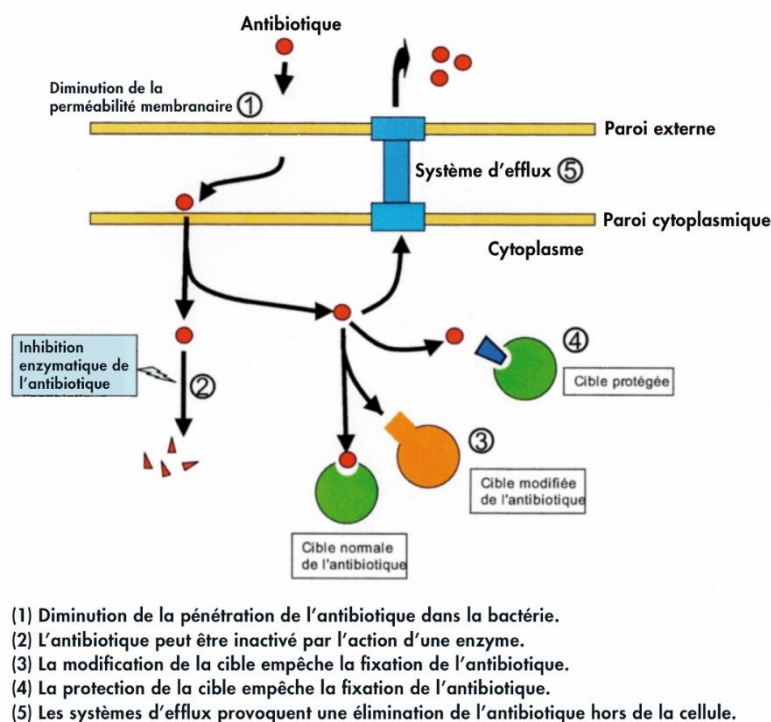


Figure I-50: Mécanisme d'action des antibiotiques

I-6. Activité anticorrosion

Le mot corrosion dérive du terme latin *corrodere*, qui a pour sens "attaquer, ronger"[178]. La corrosion a des effets sur tous les métaux. Elle est le résultat d'interactions physico-chimiques entre le matériau et son environnement conduisant à des modifications des propriétés du métal, souvent associées à une détérioration fonctionnelle du métal. Concernant l'acier, la corrosion se traduit par la formation de la rouille.

Ce dernier, composé notamment d'oxydes plus ou moins hydratés, ne se développe qu'en présence de l'oxygène et de l'eau à des conditions de température ambiante. Cette corrosion est nommée aqueuse et représente la forme la plus commune de corrosion dans la construction métallique. Il existe d'autres formes de la corrosion dans des milieux spécifiques. La corrosion est un procédé électrochimique ; cela implique que des piles se créent à la surface de l'acier, dans lesquelles l'une des électrodes, l'anode, se consume au profit de l'autre, la cathode, qui

demeure intacte. L'électrolyte est de l'eau, plus ou moins conductible et oxygénée. Le recours à l'acier comme matériau de construction est très largement répandu dans le monde industrialisé. Une gamme étendue d'alliages disponibles permet d'obtenir des matériaux adéquats pour chaque application. En plus de cela, le coût concurrentiel de l'acier au carbone est également un des éléments importants qui favorise son utilisation, au profit d'autres métaux comme l'aluminium ou l'acier inoxydable. Par ailleurs, l'acier doux est un alliage plus vulnérable à la corrosion.

L'acier exposé à un environnement alcalin présente généralement une couche d'oxyde passive. En effet, cette fine couche colle fortement à la surface du matériau et empêche tout contact de l'alliage avec l'oxygène et l'eau. Ce processus de défense des matériaux s'appelle la passivation. Il disparaît quand le milieu environnant enregistre une diminution du pH, ce qui contribue également à promouvoir sa corrosion.

En outre, le mécanisme principal du processus de corrosion des aciers dans un contexte propre est associé à la présence d'ions chlore. Les chlorures ont deux conséquences dans le processus de corrosion : outre leur effet destructeur sur la couche superficielle passive, ils permettent le transport des ions en abaissant la résistivité de leur électrolyte.

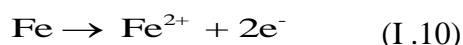
I-6-1. Généralités sur la corrosion

Mécanisme de la corrosion

Le processus de corrosion se déclenche avec la production d'une pile électrochimique qui apparaît lorsque deux éléments d'une structure ont un potentiel électrique distinct. Cette divergence de potentiel provient souvent d'hétérogénéités dans le matériau ou dans l'environnement proche. La superficie de l'acier est alors composée d'une multiplicité de microcellules, elles-mêmes constituées de régions dites anodiques où les électrons sont dégagés et de régions cathodiques où les électrons sont absorbés.

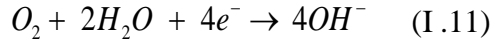
En milieu aqueux, le procès de corrosion électrochimique de l'acier peut se décrire de façon simplifiée par deux réactions électrochimiques fondamentales simultanées.

Dans la région anodique, nous aurons :

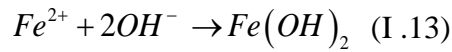


Les ions ferreux Fe^{2+} traversent la solution et pourront être ensuite oxydés en ions ferriques

Fe^{3+} . Dans la région cathodique, les électrons créés sont absorbés afin de rétablir l'équilibre électronique. Les réactions cathodiques qui y correspondent sont la réaction de réduction de l'oxygène en solution dans l'eau (I-11) ou la réaction de réduction du proton avec dégagement d'hydrogène (I-12) :



Les ions hydroxydes OH^- produits en solution pourront se combiner avec les ions Fe^{2+} et précipiter sous la forme d'hydroxyde ferreux à la surface de l'acier, quand les concentrations en ions ferreux et hydroxydes le tolèrent :



Ce dernier peut alors s'oxyder pour produire de l'oxyde ferrique Fe_2O_3 ou de la magnétite Fe_3O_4 hydratés ou bien évoluer en goethite ou lépidocrocite, respectivement α ou γ - $FeOOH$. Ces derniers, en revêtant la surface du métal, permettent de former une couche de passivation qui peut être de nature protectrice en suivant son étanchéité. En plus, la porosité de cette couche va permettre de contrôler les vitesses de corrosion.

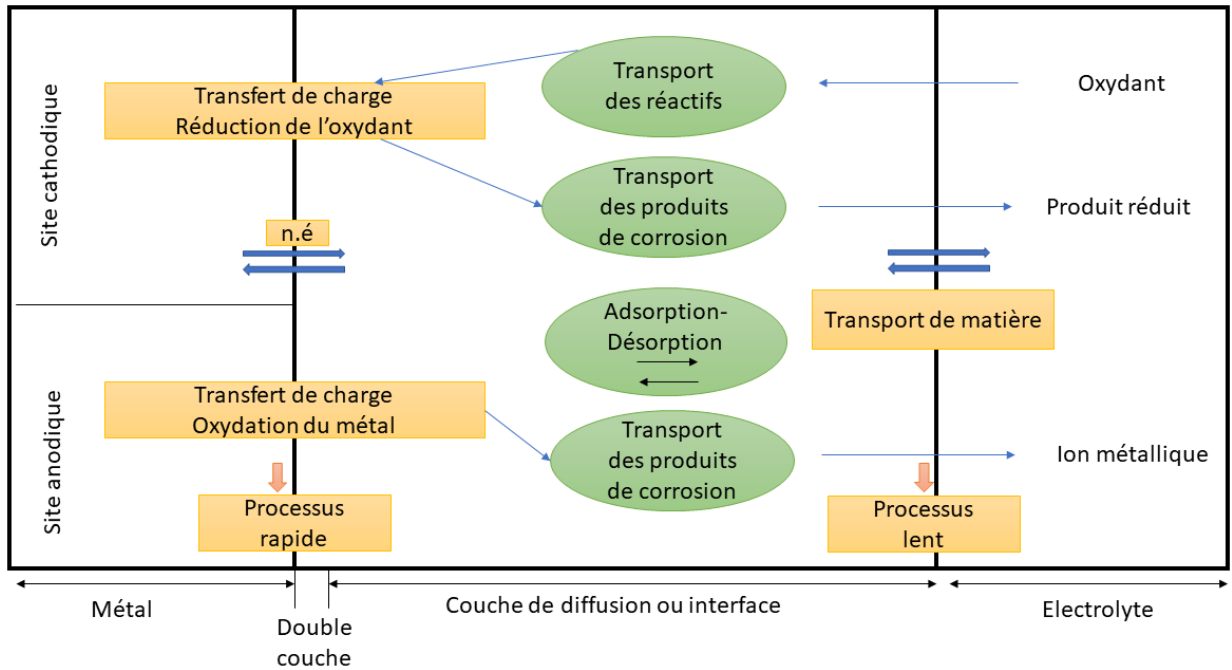


Figure I-51: Les différents processus se déroulant à l'interface lors de la corrosion d'un métal en milieu liquide [179]

Adsorption physique

L'adsorption physique est attribuée aux forces de Van Der Waals, qui se distinguent par de très faibles énergies de liaison, moins de -20 kJ.mol^{-1} (figure I-52) [180], ou bien aux forces électrostatiques qui agissent entre la charge ionique ou bien les dipôles de l'espèce qui inhibe la corrosion et la surface du métal à charge électrique.

La charge du métal est déterminée par la localisation du potentiel de corrosion de ce même métal vis-à-vis de son potentiel de charge nulle. Si le potentiel de corrosion du métal est moins élevé que le potentiel de charge nulle, on favorise l'adsorption des cations ; réciproquement, les anions sont également adsorbés lorsque le potentiel de corrosion du métal se trouve dans la zone de potentiel positif par rapport au potentiel de charge nulle [181].

Au contraire, les anions peuvent être adsorbés lorsque le potentiel de corrosion se situe dans la zone de potentiel positif par rapport au potentiel de charge nulle. Par ailleurs, dans certains cas, la charge de surface pourra être modulée par l'adsorption d'une couche d'ions intermédiaires.

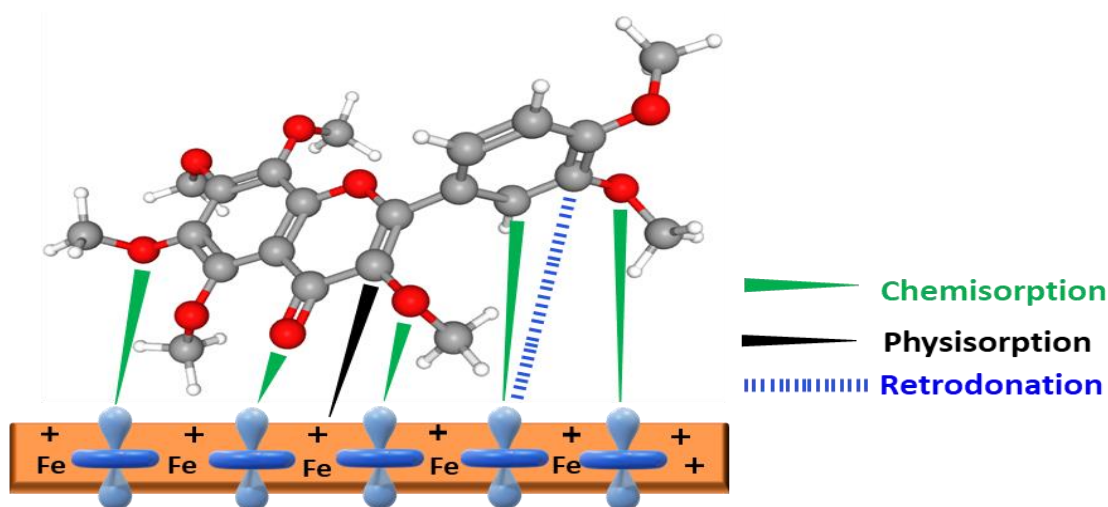


Figure I-52: Schéma descriptif de l'adsorption physique et chimique

Adsorption chimique

La chimie-adsorption fait intervenir des énergies de liaison importantes. Cette adsorption est assortie d'une modification importante de la répartition des charges électroniques des différentes molécules adsorbées, les forces impliquées sont du même genre que celles qui sont impliquées dans la création de liaisons chimiques. Elle est très souvent irréversible (ou pratiquement irréversible), propre à chaque métal et engendre une couche monomoléculaire.

L'adsorption chimique est le plus important type d'interaction qui peut apparaître entre un

inhibiteur et le métal (figure I-52). En ce cas, les espèces adsorbées sont en contact direct avec le support métallique. Ces réactions nécessitent un transfert de charge ou un échange d'électrons entre les différentes molécules de l'inhibiteur et les liaisons d'insaturées de la surface du métal. Cela favorise la formation de liaisons du type coordination ou du type covalent.

Il est bien entendu que le transfert d'électrons est privilégié par la présence d'hétéroatomes, de liaisons multiples et par la présence de substituants présentant un effet donneur. Certains chercheurs ont utilisé le concept d'acide-base de Lewis pour décrire l'adsorption chimique des agents anticorrosion. De fait, l'efficacité inhibitrice croît pour une série de composés organiques dans la direction suivante : $O < N < S < P$.

Pour les composés aromatiques ou les composés présentant un système insaturé, la densité électronique est modifiée par la mise en place de substituants qui sont susceptibles de renforcer ou de réduire l'efficacité de l'inhibition de la corrosion.

En plus, la chimisorption est un procédé lent, qui dépend de la température et qui est déterminé par une énergie d'activation élevée [180].

Le choix d'un matériau

Le choix d'un matériau pour la réalisation d'un équipement est un résultat d'un compromis entre divers facteurs :

- Compromis par rapport à la résistance à la corrosion et à certaines autres propriétés comme la résistance mécanique, la commodité de mise en œuvre.
- Compromis par rapport à la durée de vie de l'équipement et à la longévité estimée du matériau.

Nous pourrions récapituler les divers compromis qui régissent le choix d'un matériau pour la construction d'un équipement par les éléments suivants : Aspect, Résistance mécanique, Fabrication, Résistance à la corrosion, Prix (cout du matériaux, installation, entretien, contrôlé, préparation...).

La résistance à la corrosion d'un métal ne représente pas une qualité intrinsèque. Elle est conditionnée par les caractéristiques du matériau et de son environnement. En plus de ces éléments, les modalités d'utilisation et la durée de mise en œuvre jouent un rôle primordial sur les phénomènes de corrosion.

Diagramme de POURBAIX

Quand on aborde la corrosion d'un métal dans l'eau pure, de nombreuses réactions se mettent en place, elles peuvent être classifiées en 3 types [182]:

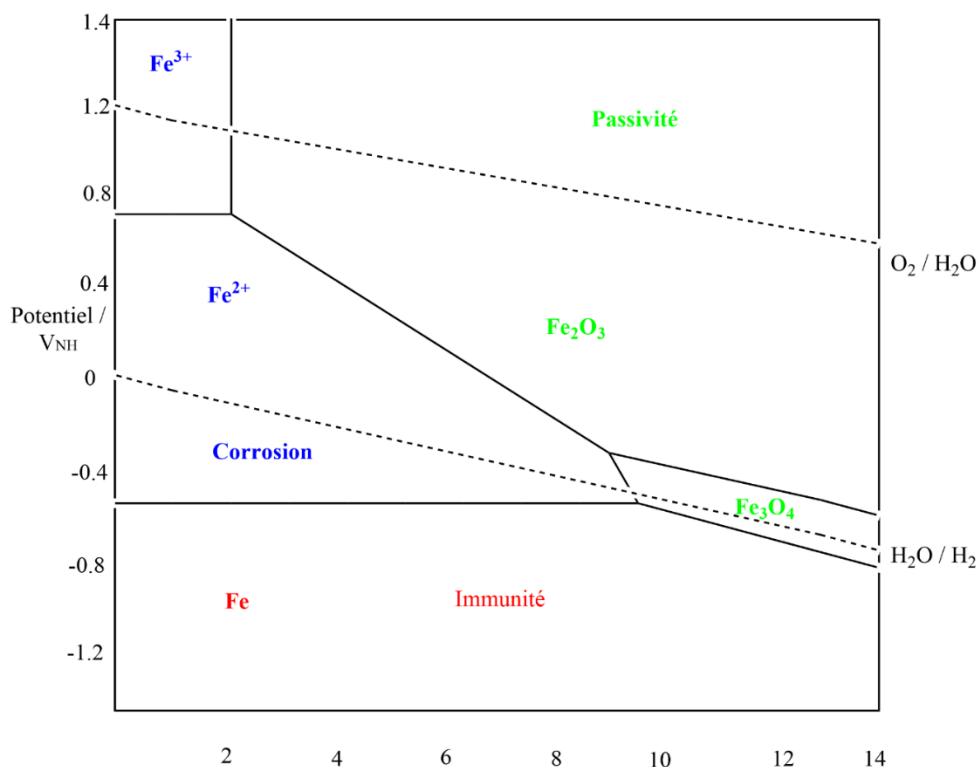


Figure I-53: Diagramme de Pourbaix à 25°C

Les réactions chimiques pures, ce qui correspond aux réactions acide-base où seuls les échanges d'eau, de protons et d'ions hydroxyde se font.

Les réactions d'oxydoréduction pures où seulement les échanges d'électrons se produisent.

Les réactions mixtes où tous les éléments seront respectivement échangés (électrons, protons, molécules d'eau et ions hydroxydes).

Ces réactions sont illustrées par des lignes d'équilibre sur un diagramme E-PH et séparent le plan en domaines où seule une espèce donnée est thermodynamiquement plus stable [183].

Selon l'état et le type de l'espèce envisagée, on peut ainsi distinguer 3 domaines :

- Les domaines de corrosion (espèce majoritairement stable : ion, solide poreux).

- Les domaines d'immunité (espèce stable pure).

La visualisation du diagramme de corrosion du fer est rendue par la figure I-53 [184].

Domaine de corrosion

Le domaine de la corrosion est celui où l'espèce stabilisée thermodynamiquement correspond à un ion métallique (ion simple ou ion complexe). Dans cette région, le matériau se dégradera sans être perturbé. La dimension de la zone de ce domaine dans le diagramme indique la vulnérabilité de ce métal à la corrosion

Domaine de passivité

Il s'agit de la zone où l'espèce stable est un composé solide (généralement un oxyde). La formation de ces oxydes à lieu pendant le processus de corrosion où il y a un dépôt simultané de l'oxyde métallique sur la surface.

Ces oxydes naissent à la surface et adhèrent intimement au métal sous-jacent, l'isolant du fluide et le bloquant. Quand la totalité de la surface du métal est ainsi couverte, le courant de corrosion ne pourra plus circuler, le métal est qualifié de passif.

L'état passif du métal lui confère un état thermodynamique plus stable qui se manifeste par une érection du potentiel vers les valeurs les plus nobles. On distingue selon le type des métaux et surtout selon le mode de formation de leurs oxydes ceux qui passivent bien et ceux qui passivent un peu moins bien.

En additionnant de petites concentrations de métaux à oxydes passivant à des aciers d'autres alliages, on obtiendra l'ennoblissement de l'alliage manufacturé. L'acier inoxydable en est le meilleur exemple : l'addition de chrome à un métal ordinaire permet de réaliser des aciers inoxydables censés être moins sensibles à la corrosion.

Domaine d'immunité

La zone d'immunité est la zone dans laquelle le métal n'est pas attaqué. Cela est due à la charge superficielle du métal, devenue très négative, qui attire les charges positives, notamment les cations du métal envisagé qui ne pourront pas s'éloigner de la surface et qui resteront plaques et souvent se dégageront. En cas de corrosion en milieu aqueux, la libération des protons de l'eau qui se réalise en 2 phases, premièrement la formation d'hydrogène atomique qui est adsorbé puis la

combinaison des atomes d'hydrogène pour donner la molécule qui est dégagée.

L'hydrogène atomique adsorbé constitue un film à la surface du métal et évite les échanges avec le milieu, la surface est ainsi polarisée, elle est en situation de protection immunitaire.

I-6-2. Généralité sur les inhibiteurs de corrosion

Historique

Comme dans de nombreux autres domaines, il est extrêmement difficile de préciser l'origine temporelle de la lutte contre la corrosion, qui est par conséquent envisagée comme une véritable technologie à part entière. Les Romains étaient déjà informés du fait que la corrosion était un phénomène. Au premier siècle de notre ère, le célèbre naturaliste et historiciste romain Pline l'Ancien (23-79) évoque des méthodes de prévention de la corrosion du fer et du bronze : huiles ou bitumes pour le bronze et céruse pour le fer. L'étude de la corrosion a été entreprise vers le XVIIe siècle, mais les moyens de lutter contre cette corrosion n'ont été étudiés scientifiquement qu'au XIXe siècle. Au cours des dernières décennies, on a découvert que le calcaire qui se dépose à l'intérieur des tuyaux qui transportent certaines eaux naturelles permet de protéger la canalisation. Au lieu d'améliorer en permanence la résistance à la corrosion des canalisations en y agissant plus directement, il était alors plus commode de moduler les concentrations en substances minérales des solutions acheminées, qui sont à la source des dépôts calcaires " protecteurs ".

Critère d'efficacité

Un inhibiteur de corrosion en particulier, doit réduire la rapidité de corrosion de l'acier, tout en agissant à faible concentration et de manière prolongée, et surtout ne pas altérer les propriétés mécaniques des matériaux. Stable en présence de tout autre constituant de du milieu, en particulier envers les oxydants. Stable aux températures de fonctionnement. Performant à faible concentration. Respect des normes de non-toxicité. Peu cher pour assurer des retombées économiques industrielles.

Les différentes fonctions essentielles d'un agent anticorrosion sont présentées dans la figure suivante :

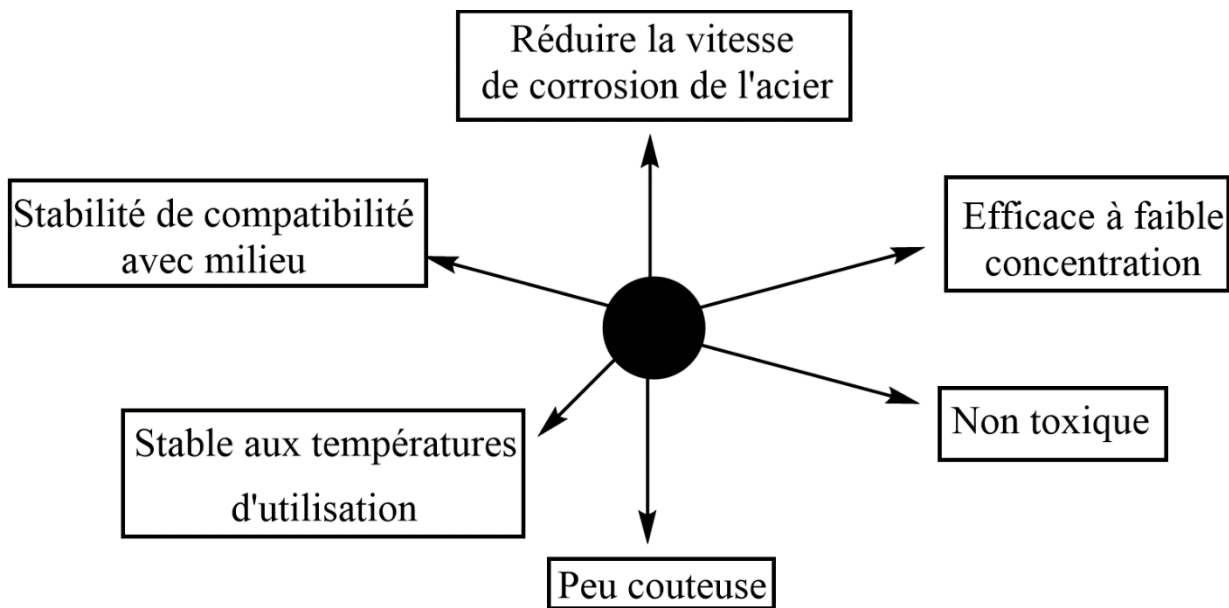


Figure I-54: Caractéristiques et qualités des inhibiteurs

Pour toutes les catégories de mécanismes de protection des inhibiteurs, le potentiel de protection des films formés caractérise la force inhibitrice, autrement dit, la diminution de la vitesse de corrosion. Le potentiel de protection d'un agent inhibiteur est formulé par l'équation suivante [185]:

$$E\% = \frac{I_0 - I_{inb}}{I_0} \times 100 \quad \text{Eq (I.1)}$$

Où I_0 et I_{inb} indiquent respectivement, les courants de corrosion sans et avec l'inhibiteur [186].

Dans de multiples contextes, les inhibiteurs de corrosion offrent un moyen efficace de contrecarrer la corrosion des métaux et des alliages [187].

Les classes d'inhibiteurs

Il existe de nombreuses manières de classer les inhibiteurs, qui se distinguent les unes des autres de diverses façons. Classification par domaine d'application :

Inhibition en milieu acide

Les inhibiteurs en milieu acide servent à freiner l'attaque de l'acier lors du décapage acide. Dans l'industrie pétrolière, ils sont ajoutés aux fluides de forage. Les agents inhibiteurs les plus couramment utilisés sont des composés organiques. Ces composés se fixent à la surface du métal et permettent ainsi de ralentir la corrosion. Elles possèdent une partie non polaire, hydrophobe et assez

volumineuse, essentiellement constituée d'atomes de carbone et d'hydrogène, et une autre partie polaire, hydrophile, qui comprend un ou plusieurs groupes fonctionnels, notamment : $-NH_2$ (amine), $-SH$ (mercapto), $-OH$ (hydroxyle), $-COOH$ (carboxyle), $-PO_3$ (phosphate), et de leurs dérivés. La molécule se rattache par son groupe fonctionnel par adsorption à la surface du métal, alors que sa partie non polaire vient bloquer partiellement la surface active [188].

Les autres inhibiteurs produisent des complexes peu dissous avec les ions métalliques. Ces complexes sont précipités à la surface et constituent des couches superficielles, ce qui retarde la dissolution du métal.

Inhibition en milieu neutre

La corrosion dans un environnement neutre est habituellement causée par l'oxygène dissous. Le danger d'une attaque baisse si l'on parvient à empêcher l'oxygène d'atteindre la zone de surface (inhibition cathodique). Il est par ailleurs possible de ralentir la vitesse de la réaction partielle anodique en faisant en sorte que le métal soit passif (inhibition anodique). La corrosion peut être également inhibée par des matières telles que les benzoates, les tartrates ou les salicylates, etc., qui sont adsorbés sur la surface et verrouillent les sites de réaction.

Inhibition par passivation

Il est plus spécialement utilisé pour assurer la protection de l'acier dans les dispositifs d'eau de refroidissement. Ce type est obtenu par des inhibiteurs de type oxydant et des agents tampons qui assurent un pH élevé près de la surface du support métallique.

Inhibition par précipitation

En milieu neutre, de multiples inhibiteurs créent des couches superficielles par une précipitation, comme par exemple, les polyphosphates ($NaPO_3$) et les organophosphates. En intervenant principalement sur la réaction cathodique, barrière de diffusion, ils contribuent à réduire la vitesse de corrosion en raison de la présence d'oxygène.

Inhibition en phase gazeuse

Les inhibiteurs en phase gazeuse sont habituellement destinés à la protection temporaire de différentes pièces emballées pendant le transport ou le stockage, comme les appareils de précision, les pièces électroniques, les machines, etc. Ce sont normalement des composés organiques à forte pression de vaporisation, notamment quelques amines. Ce sont en général des composés organiques à haute pression de vapeur, comme certaines amines. Ces composés s'adsorbent sur la surface du

métal tout en le protégeant de la corrosion atmosphérique. Le nitrite de dicylhexylamine est utilisé pour préserver l'acier [189].

Inhibition par peinture

En effet, l'utilisation de ce genre d'inhibiteurs permet la création d'une barrière physique entre le milieu agressif et le métal à protéger. Les peintures renferment des pigments inorganiques ou des tanins qui entrent dans la composition des inhibiteurs de corrosion.

Les pigments les plus utilisés sont :

- l'oxyde de plomb Pb_3O_4 ;
- le chromate de zinc $ZnCrO_4$.

Classement selon la nature de la molécule inhibitrice

Inhibiteurs organiques

Les composés organiques représentent une part croissante du processus de développement des inhibiteurs de corrosion : leur emploi est actuellement privilégié par rapport à celui des inhibiteurs inorganiques, essentiellement pour des raisons liées à l'écotoxicité. Les inhibiteurs organiques sont souvent constitués de dérivés des produits de l'industrie pétrolière. Ils disposent d'au moins un centre actif qui peut échanger des électrons avec le métal, à savoir l'azote, l'oxygène, le phosphore ou le soufre. Les groupements fonctionnels usuels, autorisant leur accrochage sur le métal, sont :

- le radical amino ($-NH_2$),
- le radical mercapto ($-SH$),
- le radical hydroxyle ($-OH$),
- le radical carboxyle ($-COOH$).

Les inhibiteurs contenant du soufre sont plus efficaces que ceux contenant de l'azote, car le soufre est un excellent donneur d'électrons que l'azote. La première caractéristique de ces inhibiteurs est leur haute efficacité, même à faible concentration. L'action des inhibiteurs de ces composés organiques, qui est globalement indépendante des processus de corrosion du type anodique et du type cathodique, est relative à la formation (par adsorption) d'une paroi plus ou moins étendue, mais

d'épaisseur finie, qui interdit l'accès de la solution au métal. Une de limitations dans l'utilisation de ces produits peut être l'élévation de la température, les molécules organiques étant souvent très instables à haute température [190].

Inhibiteurs minéraux

Les substances minérales sont généralement utilisées dans un contexte proche de la neutralité, ou encore dans un contexte alcalin et plus marginalement dans un domaine acide. Les produits se dissocient en solution et ce sont bien souvent leurs produits de dissociation qui se chargent des phénomènes d'inhibition (les anions et les cations). Les cations inhibiteurs sont majoritairement Ca^{2+} et Zn^{2+} et ceux qui créent des sels insolubles avec quelques anions comme l'hydroxyle (OH^-). Les premiers anions inhibiteurs sont les oxo-anions de type XO_n^- comme par exemple les chromates, les molybdates, les phosphates, les silicates, etc [191].

Le choix des molécules utilisées actuellement est de plus en plus réduit, car la plupart des produits efficaces ont un côté négatif pour l'environnement. Néanmoins, de nouveaux complexes organiques de chrome III et qui sont efficaces contre la corrosion et non toxiques ont été mis au point, ainsi que d'autres cations (Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Sr^{2+} , Al^{2+} , Zr^{2+} , Fe^{2+} ...) [192].

Mécanisme d'action électrochimique (réaction partielle)

Cette classification des agents inhibiteurs tient en compte la nature électrochimique de la corrosion dite en phase liquide, qui entraîne au minimum deux réactions :

- Une première réaction anodique de dissolution du métal (la réaction d'oxydation).
- Une seconde réaction cathodique de réduction d'un oxydant contenu dans la solution.

Le but de tout inhibiteur est de réduire la vitesse de l'une des deux réactions et, parfois, des deux en même temps.

Les inhibiteurs anodiques

Ils interviennent sur les sites anodiques microscopiques en abaissant la densité du courant partiel anodique et en reportant le potentiel de corrosion dans le sens positif.

Ils sont à utiliser avec précaution. En particulier, si le film de protection est endommagé par rayure ou dissolution, ou si la concentration d'inhibiteur est inférieure à la quantité nécessaire pour rétablir le film, la partie dénudée se corrode par des piqûres très profondes. De ce fait, ils sont classés dans la catégorie des inhibiteurs dangereux tels que : ortho phosphate, silicates et nitrites.

Les inhibiteurs cathodiques

Ils interviennent sur les sites cathodiques microscopiques en faisant baisser la densité du flux cathodique partiel et reportent le potentiel de corrosion dans le sens négatif.

Cela se fait par la précipitation des espèces insolubles sur les sites cathodiques. En raison de la précipitation de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ sur les sites cathodiques, les ions cuivre sont employés comme inhibiteurs cathodiques.

La figure I-55 [193] illustre la formation d'une zone barrière dans les réactions cathodiques ainsi que anodiques d'un traitement électrochimique.

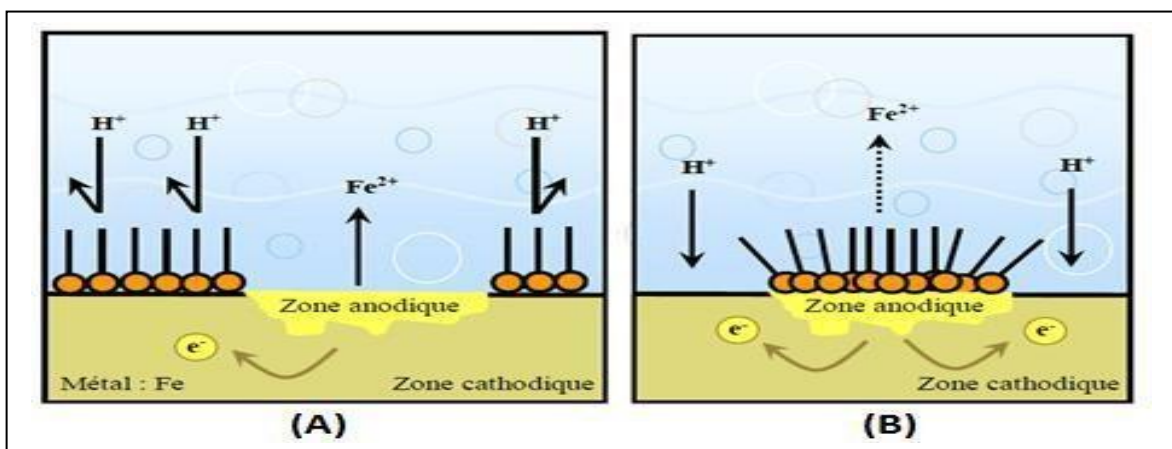


Figure I-55: Formation des couches barrières (A) cathodiques et (B) anodiques interférant avec les réactions électrochimiques, dans le cas d'une étude en milieu acide

Les inhibiteurs mixtes

Ils opèrent à la fois sur l'anode et sur la cathode, en alliant des agents oxydants (chromates ou nitrates) et des éléments non oxydants qui se précipitent comme les silicates ou les orthophosphates. Peu importe la réaction électrochimique qui dirige la corrosion, un agent inhibiteur cathodique n'est jamais un élément dangereux, même en quantité importante. Par ailleurs, dans le contexte du contrôle de la corrosion par la réaction anodique (cas le plus répandu), une très petite quantité d'inhibiteurs anodiques provoque une corrosion par piqûres.

Les différents types d'inhibiteurs (anodiques, cathodiques, mixtes) en fonction du déplacement potentiel sont illustrés dans la figure I-56.

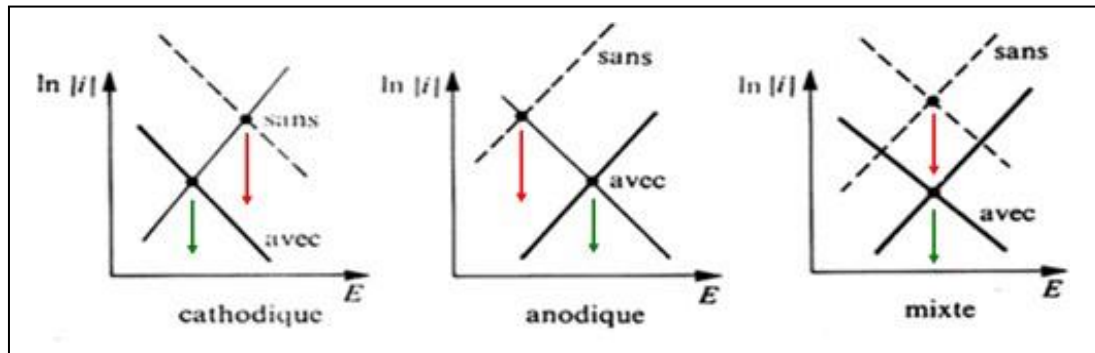


Figure I-56: Diagrammes d'Evans montrant le déplacement du potentiel de corrosion dû à la présence d'un inhibiteur de corrosion

Il ressort de ces notions générales que le mécanisme d'action d'un inhibiteur peut se présenter sous deux aspects : un volet "mécanisme" (intervention dans les différents processus fondamentaux de la corrosion) et un volet "morphologie" (implication de la molécule inhibitrice dans la structure interfaciale).

Classification par mécanisme réactionnel

Inhibition par passivation

Quelques agents oxydants inhibiteurs engendrent une passivation spontanée du métal, réduisant ainsi la vitesse de corrosion. Cette passivation peut, dans certains cas, être stimulée par des agents tampons qui permettent d'augmenter le pH à côté de la surface du métal [195].

Inhibition par précipitation

Quelques agents inhibiteurs entraînent la formation de films de surface par une précipitation de sels minéraux ou de complexes organiques faiblement solubles. Ces films atténuent la possibilité d'accès de l'oxygène à la surface et, par ailleurs, ils freinent partiellement la dissolution anodique [196].

Inhibition par élimination de l'agent corrosif

Ce genre d'inhibition n'est réalisable que dans des systèmes en circuit fermé. Il est en particulier utilisé dans les systèmes d'eau chaude des stations thermiques. Une faible quantité de sulfite de sodium (Na_2SO_3) ou d'hydrazine (N_2H_4) additionné à l'eau, auparavant dégazée et déionisée, fait disparaître les dernières traces d'oxygène et par conséquent supprime la corrosion [196].

Inhibition par adsorption

Le phénomène d'adsorption est un phénomène de nature universelle car tout type de surface

est composé d'atomes qui ne possèdent pas toutes leurs combinaisons chimiques. Par conséquent, cette surface tend à compléter ce gap en capturant les atomes et les molécules qui se situent à son voisinage. Deux principaux types d'interaction sont essentiellement responsables de la liaison inhibiteur/surface métallique, ils concernent la physisorption (la formation de liaisons faibles) ainsi que la chimisorption. Les deux modes d'adsorption sont influencés par la nature et la charge du métal, la composition chimique du produit organique et le choix de l'électrolyte [197]. Les différents modes d'adsorption envisageables sont illustrés dans la figure I-57.

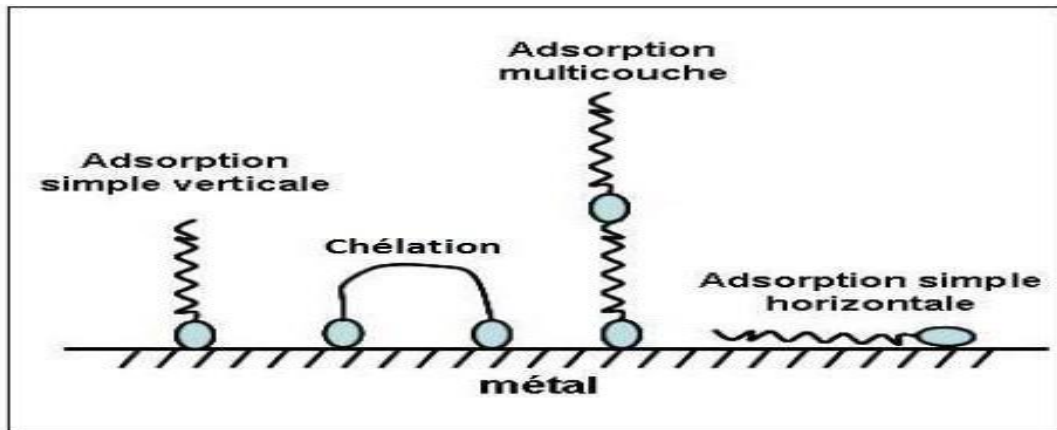


Figure I-57: Représentation schématique des modes d'adsorption de molécules organiques inhibitrices sur une surface métallique [197]

Isothermes d'adsorption

Les lois de variation de la proportion adsorbée avec la concentration de la substance inhibitrice sont généralement représentées par des isothermes classiques, parmi les deux suivantes : Langmuir, Frumkin et Temkin....

Isothermes de Langmuir

Selon le modèle de Langmuir, il est supposé qu'il existe un nombre fixe de sites sur la surface. Chaque site ne peut accueillir ou adsorber à lui seul qu'une seule particule. En outre, comme les interactions entre particules adsorbées sont ignorées, l'énergie nécessaire à l'adsorption est toujours constante [198]. La vitesse d'adsorption est donc proportionnelle à la concentration de l'élément inhibiteur C_{inh} et à la portion des sites d'adsorption non occupés $(1-\theta)$, où θ désigne la fraction des sites occupés par l'élément inhibiteur ($0 < \theta < 1$).

$$V_{ads} = K_{ads}(1-\theta)C_{inh} \text{ Eq (I.2)}$$

En revanche, la vitesse de désorption est en rapport avec la fraction des sites occupés par les éléments adsorbés :

$$I = zFv \text{ Eq (I.3)}$$

A une situation d'équilibre, les deux vitesses sont identiques.

$$K_{ads}(1-\theta)C_{inh} = K_{des}\theta \text{ Eq (I.4)}$$

On obtient ainsi l'équation suivante de l'isotherme de Langmuir :

$$\frac{\theta}{(1-\theta)} = \frac{K_{ads}}{K_{des}}C_{inh} = bC_{inh} \text{ Eq (I.5)}$$

La fraction de sites occupés θ , également nommée taux de couverture de surface est exprimée par la formule :

$$\theta = \frac{bC_{inh}}{1+bC_{inh}} \text{ Eq (I.6)}$$

Sur cette équation, b traduit le coefficient d'adsorption.

Isothermes de Temkin

Selon le modèle de Temkin, en effet, l'énergie libre d'adsorption de la substance adsorbée (adsorbat) est une fonction proche de la valeur de la vitesse d'écoulement θ et aussi les constantes de vitesse chimique qui sont fonction de θ . Il existe une attraction ou une répulsion entre les entités adsorbées sur la surface. La formule de l'isotherme de Temkin est :

$$bC_{inh} = \frac{e^{(a\theta)-1}}{1 - e^{-a(1-\theta)}} \text{ Eq (I.7)}$$

Dans laquelle a représente la constante d'interaction des particules adsorbées, b indique le coefficient d'adsorption et C_{inh} est la concentration de son inhibiteur dans l'électrolyte.

En général, il est bien difficile de préciser à quel type d'isotherme répond le comportement d'un produit inhibiteur dans un système donné. Nous pouvons seulement signaler que l'adsorption à la surface hétérogène est la plupart du temps associée à une isotherme de type Langmuir. Ces observations doivent amener à une grande prudence dans la manipulation des taux de recouvrement.

Isothermes de Frumkin

La représentation de l'isotherme de Frumkin est effectuée après réarrangement par

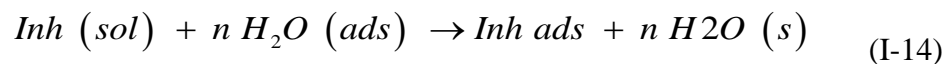
l'expression suivante :

$$\ln[\theta / C(\theta - 1)] = \ln K + 2a\theta \quad \text{Eq (I.8)}$$

Le facteur "a" a les dimensions suivantes : J/mol par mol/ cm³, il traduit la façon dont l'augmentation du recouvrement change l'énergie d'adsorption de cette espèce. Si a vaut positif, les interactions entre deux entités à la surface sont attractives, Si a vaut négatif, les interactions sont répulsives. Si a vaut 0, l'isotherme de Frumkin se situe à proximité de l'isotherme de Langmuir [199].

Mécanismes d'action dans la solution aqueuse

En solution aqueuse, du fait de leur nature polaire, de nombreuses molécules d'eau sont adsorbées à la surface du métal. Par conséquent, les inhibiteurs organiques devraient déplacer les molécules d'eau avant leur adsorption (Figure I-58) [200]. Conformément à Bockris [200], l'adsorption d'une matière organique inhibitrice sur la surface du métal est représentée par la réaction suivante :



Dans ce cas, n est le nombre de molécules d'eau qui sont déplacées de la surface par chaque molécule organique qui est absorbée. Le nombre n n'est indépendamment de la couverture du métal et de sa charge, mais il est lié à la surface géométrique dans laquelle se trouve la molécule organique par rapport à celle de l'eau. La molécule organique est adsorbée car l'énergie d'interaction du métal avec la surface de la molécule organique est plus importante que l'énergie d'interaction du métal par rapport aux molécules d'eau.

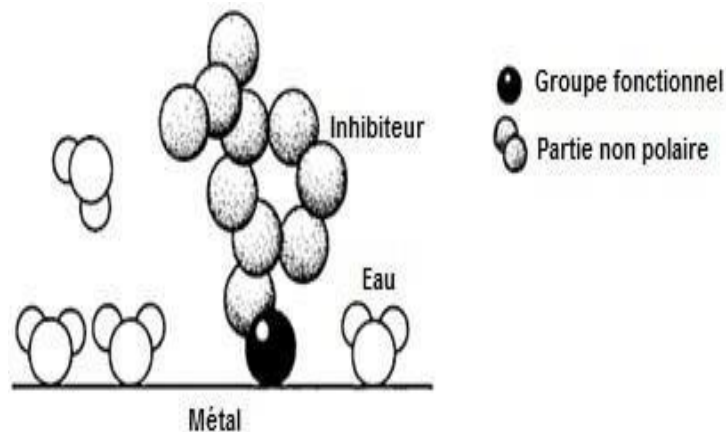


Figure I-58: Adsorption d'un inhibiteur organique sur une surface métallique en milieu aqueux

Le processus d'inhibition de la corrosion par le biais de composés organiques est habituellement le résultat de leur adsorption à la surface de l'élément métallique. Ce phénomène est mis en relief par :

- Examen des isothermes d'adsorption ;

- Expression de la surface à travers des techniques spécifiques : microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie photo électronique (XPS).

La compréhension des paramètres qui régissent le phénomène d'adsorption des agents inhibiteurs est primordiale pour mieux connaître le mécanisme de leur inhibition.

I-6-3. Relation structure-activité

Il existe de nombreuses et diverses substances organiques parmi les inhibiteurs de corrosion, et notamment des molécules aromatiques ou des macromolécules à chaînes linéaires ou ramifiées. Ces substances s'adsorbent sur les sites actifs du métal, sans altérer le mécanisme des premières réactions électrochimiques. Ils obstruent les sites et ralentissent la vitesse de la corrosion cathodique, anodique ou aussi mixte en corrélation avec le nombre de sites actifs concernés par l'inhibiteur. Par ailleurs, leur efficacité est notamment fonction de leur structure moléculaire et de leur concentration. De plus, d'autres paramètres de structure peuvent avoir une influence sur l'efficacité des inhibiteurs, nous envisagerons notamment :

La surface moléculaire proposée sur la surface du métal. De cette façon, la projection est fonction des différentes dispositions possibles des ions ou des composés organiques à la frontière métal/solution.

- Le poids des molécules impliqués, considérés à des concentrations égales. Une élévation de la longueur de la chaîne hydrocarbure des nitriles, amines, ou mercaptans peut entraîner une augmentation de leur pouvoir inhibiteur. Ce dernier résultat est expliqué par l'effet inductif des groupes méthyles.

- La structure moléculaire a été nettement mise en évidence avec des composés comme les amines aliphatiques et les sulfites. Les auteurs estiment que la présence des produits inhibiteurs permet de réduire la surface de l'électro-métal qui réagit chimiquement.

- L'effet de la synergie est la conséquence de l'action de deux agents inhibiteurs réunis en solution ; par conséquent, l'efficacité inhibitrice est supérieure à celle des deux agents inhibiteurs

pris isolement. La synergie est atteinte par des composés présentant plusieurs groupements fonctionnels : on parle d'effet de synergie intramoléculaire [201].

Un grand nombre des inhibiteurs qui sont utilisés actuellement sont soit synthétisés en partant de matières premières peu onéreuses, soit obtenus à partir de composés organiques ayant des hétéroatomes comme des éléments d'azote, de phosphore, de soufre ou d'oxygène dans leur système aromatique ou dans leur chaîne de carbone. Néanmoins, la très grande majorité de ces substances anticorrosives présentent une toxicité pour l'homme et l'environnement [202]. Notamment, ces inhibiteurs peuvent occasionner des dommages temporaires ou durables au système nerveux, mais également une désorganisation du processus biochimique et du circuit enzymatique de notre propre organisme [202]. La toxicité de ces molécules se manifeste lors de la synthèse ou lors de leurs mises en œuvre. De plus, comme ces inhibiteurs ne sont pas de nature biodégradable, ils entraînent également des troubles de la pollution. Par ailleurs, ces inconvénients ont poussé la recherche à s'orienter vers des agents naturels qui pourraient également avoir des propriétés inhibitrices envers les métaux, ainsi que les alliages [203].

Les ressources végétales ont été repérées comme des réserves de composés naturels, parfois dotés de structures moléculaires complexes et de diverses propriétés physiques, chimiques et biologiques [204]. La plus grande partie des constituants extraits des plantes sont surtout utilisés dans les secteurs des produits pharmaceutiques et des biocarburants ainsi que dans les substances utilisées en cosmétique et en gastronomie [205]. Le recours aux substances naturelles est attirant car elles sont effectivement biodégradables, écologiques, peu coûteuses et sont disponibles en abondance. Par conséquent, de nombreux organismes de recherche ont travaillé sur les produits végétaux dans le but de les utiliser comme agents anticorrosion pour les métaux et les divers alliages dans différentes conditions corrosives [206].

Conclusion :

Cette première partie de notre étude bibliographique a porté sur les métabolites secondaires de manière générale, ainsi que sur les diverses méthodes d'extraction à partir des plantes et des ressources naturelles. Par ailleurs, nous avons parlé sur l'impact des métabolites secondaires en tant qu'agents présentant des activités antioxydantes, antimicrobiennes, ainsi que leur rôle en tant qu'inhibiteurs de la corrosion. Cette exploration a permis de mettre en lumière la diversité des applications et des effets significatifs que ces composés peuvent avoir dans des domaines aussi variés que la protection contre la corrosion et la lutte contre les micro-organismes. Dans le prochain chapitre, nous élaborons les méthodes et techniques d'extraction et de purification des métabolites secondaires, ainsi que les protocoles que nous avons adoptés pour évaluer les activités biologiques et anticorrosion.

Chapitre II :

Procédures expérimentales

et méthodes de caractérisation

Introduction :

Dans la présente partie, nous aurons l'opportunité de présenter les différentes méthodes et protocoles utilisées pour l'extraction et la séparation des métabolites secondaires depuis la matrice de citrus, ainsi que les techniques mis en jeu pour l'évaluation de leur activité antioxydante, antibactérienne et anticorrosion.

Tout d'abord, un aperçu général sur la plante de citrus et plus particulièrement la variété de *citrus reticulata* est nécessaire pour donner une identification et cartographie sur la matière première qui va être le point de départ de notre expérimental.

Citrus reticulata (le mandarinier) est un arbre appartenant à la famille des Rutacées dont les agrumes sont des fruits appelés mandarines.



Figure II- 1: Arbre de *citrus reticulata*

Il se présente sous la forme d'un petit arbre avec des feuilles simples et vertes foncées et brillantes. Il est originaire d'Asie du Sud-Est (Chine et Vietnam). On le connaît en Europe que depuis le début du 19^{ème} siècle. Il est notamment cultivé en Espagne, en Algérie, en Tunisie, au Maroc et aux Etats-Unis. Sur les zones trop froides, il est transplanté sur un *Poncirus* pour lui permettre de supporter les hivers plus rigoureux.



Figure II- 2: Fruits de *citrus reticulata*

Les déchets de citrus de notre travail (écorces et feuilles) ont été collectés depuis différentes régions du Maroc (Berkane, Meknès, Beni Mellal, Marrakech et Agadir) (figure II-3) afin de faire une étude enrichissante en étudiant les facteurs de climat et de l'environnement sur les métabolites secondaires.



Figure II- 3: Les régions d'étude de notre travail

Les écorces et les feuilles ont été séché minutieusement à l'air libre, afin de bien préserver les composés phytochimiques et plus que ces enzymes sont inactives, aucun microbe ne peut se développer, il n'y a pas de chaleur, et les composés hydrolytiquement instables restent stables.



Figure II- 4: Déchets de citrus reticulata (écorces et feuilles)

Après la préparation de la matière sèche, les écorces et les feuilles seront soumis aux dispositifs d'extractions afin de récupérer les métabolites secondaires.

II. Techniques d'extraction, de séparation et d'identification

Dans un premier temps, nous commencerons par l'extraction des composés volatils (huiles essentielles) en utilisant la méthode traditionnelle la plus couramment utilisés (hydrodistillation), et ensuite nous passerons à l'extraction et fractionnement des polyphénols en utilisant une succession de techniques avancés (Flash chromatographie, HPLC- préparative,...).

II-1. Huiles essentielles

Les constituants volatils des écorces et feuilles de citrus ont été extraits par un dispositif d'hydrodistillation avec un système Clevenger (figure II-5).



Figure II- 5: Dispositif d'hydrodistillation (extraction des HES des écorces et des feuilles de citrus)

L'extraction a été réalisée par distillation à la vapeur pendant 4 h, puis l'huile brute a été séchée avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) pour éliminer toute trace d'eau. Les échantillons ont été conservés à 4°C pour une utilisation ultérieure.

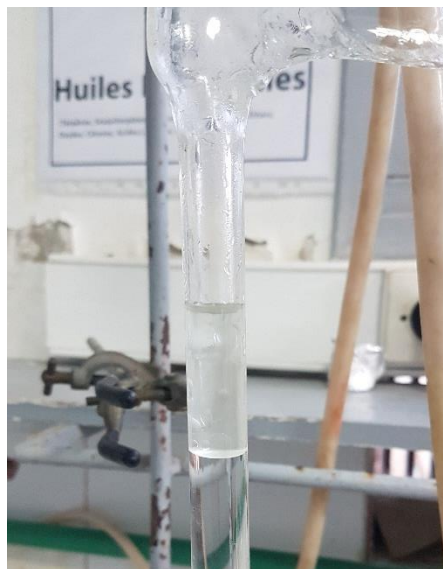


Figure II- 6: Huile essentielle obtenue après 4h de distillation

Trois extractions avec une quantité de 200 g ont été réalisées pour chaque manipulation afin d'extraire les constituants phytochimiques. Le rendement a été obtenu en utilisant la relation ci-dessous :

$$\text{Huile essentielle}(\%) = \frac{\text{masse de l'huile extraite}(\text{mg})}{\text{masse de la matière sèche}(\text{mg})} \times 100 \quad \text{Eq (II.1)}$$

L'huile essentielle obtenue depuis les écorces et les feuilles de citrus sera soumis à l'identification en utilisant les techniques chromatographiques et plus précisément la chromatographie en phase gazeuse (GC-MS).

L'échantillon de l'huile essentielle a été préparé en dissolvant 100 uL de HE dans 900 uL de n-hexane (le solvant de n-hexane est de pureté plus que 95%).

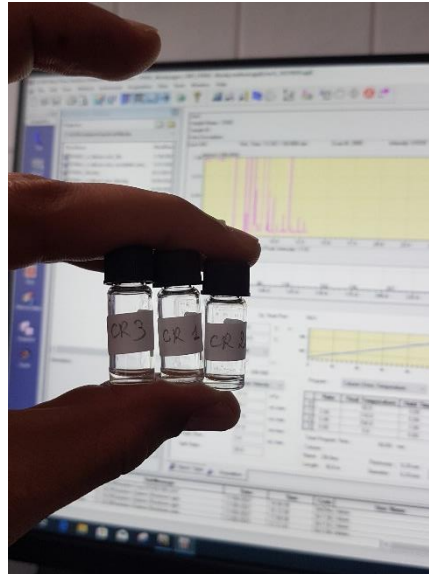


Figure II- 7: Préparation des HE avant la soumission à GC-MS

Une quantité de 10 uL sera injecté dans le dispositif de GC-MS en utilisant une seringue de 100 uL avec une grande température d'injection de 280°. Le protocole utilisé durant cette analyse sera détaillé plus dans la partie suivante.

II-1-1. Caractérisation des HE

Chromatographie en phase gazeuse-spectroscopie de masse (GC-MS)

Protocole 1 :

Le profil chimique des HEs provenant des écorces et feuilles de *Citrus reticulata* a été analysé à l'aide d'un système de chromatographie en phase gazeuse Shimadzu QP-2010 SE (Kyoto, Japon) équipé d'une colonne capillaire ZB-5MS (30 m × 0,25 mm ; épaisseur de film de 0,25 µm).



Figure II- 8: Colonne capillaire ZB-5MS

La colonne est intégrée à un spectromètre de masse (GC/MS) de Shimadzu (Kyoto, Japon).



Figure II- 9: Appareil GC-MS shimadzu QP-2010 SE

La température a été réglée pour être maintenue entre 60 et 250°C en utilisant un taux de 3 °C/min, à une température de l'injecteur de 280 °C, l'hélium comme gaz porteur (vitesse linéaire de 31.9 cm/s, mesurée à 100 °C), suivant les mêmes conditions opératoires que celles décrites dans la littérature[207] . L'indice de rétention de tous les constituants des huiles essentielles a été calculé en utilisant une série homologue de n-alcane (C8-C40), selon Van den Dool et Kratz[208] .

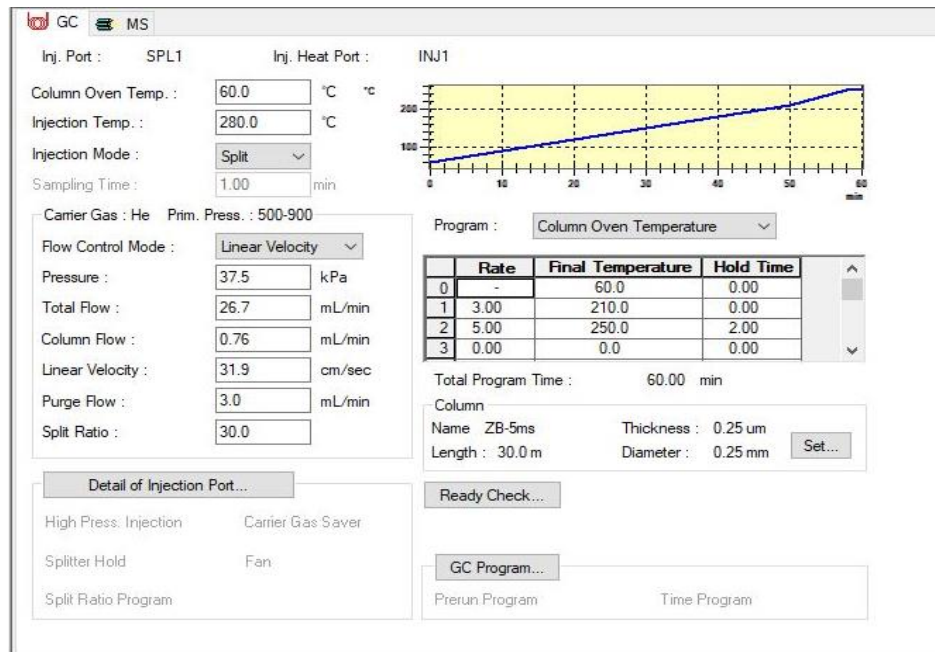


Figure II- 10: Paramètres de l'appareil GC-MS Shimadzu pour l'analyse des HEs de citrus

Protocole 2 :

L'huile essentielle des déchets d'écorces de *Citrus reticulata* a été soumise à la méthode analytique appelée chromatographie en phase gazeuse, utilisant un détecteur à ionisation de flamme, GC-FID. L'objectif principal est d'identifier les constituants chimiques. L'analyse GC-FID a été réalisée par un Perkin Elmer Clarus™ GC-680, une colonne HP-5MS (60 m * 0,25 mm * 0,25 μm) utilisant de l'hélium comme gaz porteur.



Figure II- 11: Dispositif de Pekin Elmer Clarus™ GC-680

La reconnaissance de chaque constituant a été basée sur leurs spectres de masse à l'aide des bibliothèques de données NIST.

Après la détermination de la composition de l'huile essentielle extraite des écorces et feuilles de

Citrus reticulata, l'évaluation de son activité antioxydante, antibactérienne et anticorrosion sera l'étape suivante. Mais avant de passer aux protocoles utilisés pour évaluer les activités mentionnées des composés volatils, parlons sur les méthodes utilisées pour la séparation et purification des composés non volatils (Polyphénols).

II-2. Polyphénols

Les polyphénols sont une classe très importante des métabolites secondaires. Ce sont des composés non volatils qu'on ne peut pas récupérer à travers les méthodes utilisées dans le cas des huiles essentielles (hydrodistillation). Pour ce faire, nous envisagerons dans cette partie la méthode de l'ultra Sound.

II-2-1. Extraction des polyphénols

La méthode d'ultrasons a été favorisé durant notre travail pour plusieurs raisons, on peut dire pour éviter la modification des structures chimiques. Une sonde est insérée dans le mélange. La sonde commence à émettre des ondes sonores à haute et basse pression. Les vagues créent des courants microscopiques et des tourbillons liquides sous pression qui créent un environnement hostile.



Figure II- 12: Bain à ultrasons

L'extraction par ultrasons reste la technique privilégiée pour isoler les composés bioactifs des plantes. Le principe de cette méthode se base sur la sonication qui permet d'obtenir une extraction saine sans utilisation de température. Il améliore le processus de diffusion en accélérant le transfert de masse dans les matières végétales, provoquant la rupture des parois cellulaires et libérant les composés souhaités.

Avant de commencer l'extraction des polyphénols, la matière végétale a été broyé afin d'accroître la surface de contact entre les tissus contenant les composés bioactifs et le solvant.



Figure II- 13: Broyage de la matière sèche

Après broyage, la matrice de citrus est devenue sous forme poudre ce qui permettra à une bonne extraction par la suite. Le broyage joue un rôle assez important sur l'optimisation du rendement et du temps.

Une masse sera pesée est soumis au bain à ultrasons pour extraire les métabolites secondaires de citrus tout en utilisant comme agent d'extraction le méthanol.



Figure II- 14: Préparation de la matière fine pour une extraction au bain à ultrasons

Le méthanol sera utilisé pour leur effet polaire et leur comportement vis-à-vis les composés bioactifs. Il a le potentiel d'extraire la majorité des composés organiques présent dans la matière végétale. Il a l'avantage aussi d'être éliminé après extraction par une évaporation à rotavapor.

Un temps de 30 minutes sera accordé pour la sonification, et ce processus sera répété 3 fois afin d'extraire le maximum de métabolites secondaires.



Figure II- 15: Extraction par sonication

Le processus d'extraction pourra être suivi visuellement par la disparition de la couleur. Durant la première extraction, la couleur est toujours forte. Après une deuxième et une troisième extraction, la couleur commencera à disparaître jusqu'à le point où il y a plus de métabolites secondaires.

Après la sonication, le produit sera soumis pour une filtration de type solide-liquide afin de séparer le liquide contenant nos composés d'intérêt tout en utilisant un papier filtre et un entonnoir.



Figure II- 16: Produit obtenu après sonification

Le filtrat est présenté directement à l'évaporation en utilisant comme dispositif d'élimination du solvant, un appareil de type Büchi rotavapor r-114. La température du bain a été gardé aux alentours de 40° afin d'éviter la dénaturation des composés actifs.



Figure II- 17: Büchi rotavapor r-114

Une pression de 203 bars été réglée par une pompe à vide V-500 de même type Büchi. La pompe à vide Buchi V-500 délivre un volume de pompage de 1,6 m³/h avec un vide final légèrement inférieur à 10 mbar. La pompe peut être utilisée individuellement pour créer un vide ou peut être étendue pour créer un système de vide complet avec des condenseurs, des contrôleurs, etc.

Après la concentration du filtrat par rotavapor, un extrait visqueux est obtenu. (Figure ci-dessous)



Figure II- 18: Extrait méthanolique visqueux

L'aspect de l'extrait nous montre que le mélange contient une quantité importante des huiles. Pour faire un bon fractionnement tout en éliminant la partie huileux, une série de solvant par ordre de polarité croissante sera effectué en utilisant une extraction liquide-liquide.

L'extraction liquide-liquide, également appelée partitionnement, est un processus de séparation consistant à transférer un soluté d'un solvant à un autre, les deux solvants étant immiscibles ou partiellement miscibles entre eux.



Figure II- 19: Exemples d'extraction liquide-liquide

Pour former deux phases, il est nécessaire d'avoir une immiscibilité entre les 2 solvants en œuvre. Pour ce faire, l'eau sera considérée comme le solvant immiscible avec tous les agents d'extraction que nous utiliserons par la suite (hexane, chloroforme et éthylacétate).

L'hexane est connu comme un solvant non polaire, donc son utilisation aura comme objectif de séparer les composés non polaires du mélange, à titre d'exemple les huiles végétales. Le chloroforme est un solvant qui solubilise la plupart des composés possédant des propriétés pharmacologiques importantes.

Dans notre étude, on s'intéressera à la fraction de chloroforme afin de récupérer une catégorie des polyphénols nommée les flavones et plus précisément les polyméthoxyflavones (PMFs). Mais avant de passer à la catégorie des composés organique mentionnée, le citrus est bien connu d'être riche en matière d'hespéridine. Pour cette raison, lors de la formation de deux phases immiscibles pour établir une extraction liquide-liquide, une troisième phase a été produite contenant un précipité blanc.



Figure II- 20: Extraction de l'hespéridine par fractionnement liquide-liquide

Après séparation et filtration du précipité, la poudre blanche sera soumise pour une analyse HPLC (Chromatographie en phase liquide à haute performance) pour pouvoir déterminer la pureté du produit et après à NMR (Résonance magnétique nucléaire) pour vérifier et confirmer la structure de l'hespéridine.

II-2-2. Caractérisation des polyphénols

II-2-2-1. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Anciennement appelée chromatographie liquide haute pression, est une technique de chimie analytique utilisée pour séparer, identifier et quantifier chaque composant d'un mélange. Elle s'appuie sur des pompes pour faire passer un solvant liquide sous pression contenant le mélange d'échantillons à travers une colonne remplie d'un matériau adsorbant solide. Chaque composant de l'échantillon interagit de manière légèrement différente avec le matériau adsorbant, ce qui entraîne des débits différents pour les différents composants et conduit à la séparation des composants lorsqu'ils sortent de la colonne. L'HPLC a été utilisée à des fins de fabrication (par exemple, au cours du processus de production de produits pharmaceutiques et biologiques), juridiques (par exemple, la détection de médicaments améliorant les performances dans l'urine), de recherche (par exemple, la séparation des composants d'un échantillon biologique complexe ou de produits chimiques synthétiques similaires) et médicales (par exemple, la détection des niveaux de vitamine D dans le sérum sanguin).



Figure II- 21: HPLC analytique JASCO

La méthode utilisée pour l'analyse de l'héspéridine est une méthode à phase inverse avec une colonne de type Kinetex 5 μm XB-C18 100 A 250*4.6 mm.



Figure II- 22: Colonne Kinetex 5 μm XB-C18 100 A 250*4.6 mm

Un système de solvant constitué de l'eau et de l'acétonitrile avec une proportion de 30% acétonitrile et 70% eau. Nous allons jusqu'à 100% acétonitrile pendant 30 minutes. Le débit de flow était de 1 millilitre par minute et une pression de 35 MPa.

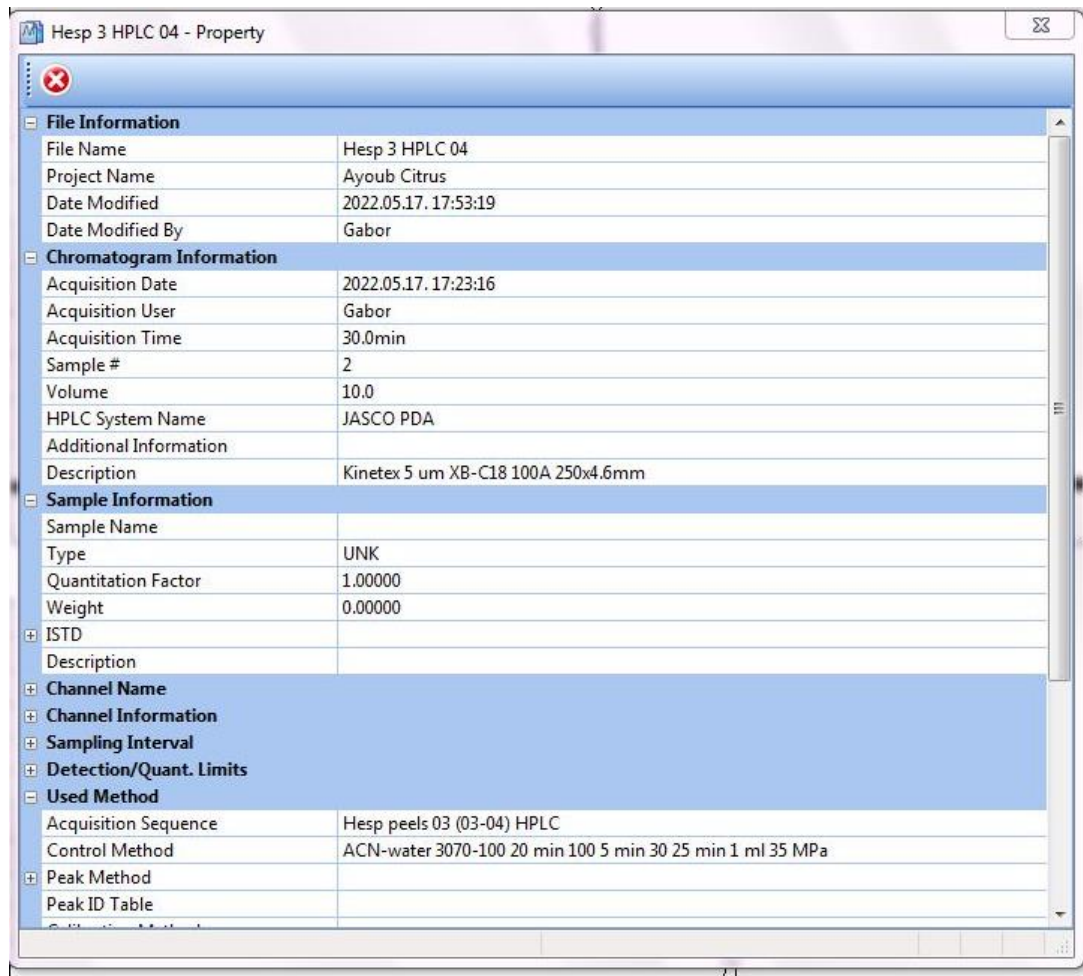


Figure II- 23: Méthode d'analyse de l'hespéridine sur HPLC-PDA

La chromatographie peut être décrite comme un processus de transfert de masse impliquant une adsorption. La HPLC repose sur des pompes pour faire passer un liquide sous pression et un mélange d'échantillons à travers une colonne remplie d'adsorbant, ce qui conduit à la séparation des composants de l'échantillon. Le composant actif de la colonne, l'adsorbant, est généralement un matériau granulaire composé de particules solides (par exemple, de la silice, des polymères, etc.), d'une taille de 2 à 50 μm . Les composants du mélange d'échantillons sont séparés les uns des autres en raison de leurs différents degrés d'interaction avec les particules d'adsorbant. Le liquide sous pression est généralement un mélange de solvants (par exemple, de l'eau, de l'acétonitrile et/ou du méthanol) et est appelé " phase mobile ". Sa composition et sa température jouent un rôle majeur dans le processus de séparation en influençant les interactions qui ont lieu entre les composants de l'échantillon et l'adsorbant. Ces interactions sont de nature physique, telles que hydrophobes (dispersives), dipôle-dipôle et ioniques, le plus souvent une combinaison.

II-2-2-2. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

RMN est un phénomène physique dans lequel des noyaux placés dans un champ magnétique

constant intense sont perturbés par un champ magnétique oscillant faible et réagissent en produisant un signal électromagnétique dont la fréquence est caractéristique du champ magnétique au niveau du noyau. Ce processus se produit près de la résonance, lorsque la fréquence d'oscillation correspond à la fréquence intrinsèque des noyaux, qui dépend de l'intensité du champ magnétique statique, de l'environnement chimique et des propriétés magnétiques de l'isotope concerné ; dans les applications pratiques avec des champs magnétiques statiques allant jusqu'à environ 20 teslas, la fréquence est similaire à celle des émissions de télévision VHF et UHF (60-1000 MHz). La RMN résulte des propriétés magnétiques spécifiques de certains noyaux atomiques. La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire est largement utilisée pour déterminer la structure des molécules organiques en solution et étudier la physique moléculaire et les cristaux ainsi que les matériaux non cristallins. La RMN est également utilisée de façon courante dans les techniques d'imagerie médicale avancées, comme l'imagerie par résonance magnétique (IRM).



Figure II- 24: Spectromètre à résonance magnétique nucléaire (RMN) Bruker 700 MHz.

Elle est considérée comme l'une des principales techniques utilisées pour obtenir des informations physiques, chimiques, électroniques et structurales sur les molécules grâce au déplacement chimique des fréquences de résonance des spins nucléaires dans l'échantillon. Les divisions de pics dues aux couplages J ou dipolaires entre les noyaux sont également utiles.

Nous avons utilisé ^1H RMN et ^{13}C RMN, et nous avons comparé les résultats obtenus avec la littérature afin de valider la présente structure de l'héspéridine. Dans la partie suivante, nous aborderons la spectrométrie de masse, vu l'intérêt de cette technique et la confirmation qui donne sur le nombre des éléments présent dans la structure cherchée.

II-2-2-3. La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (MS) est une technique d'analyse utilisée pour mesurer le rapport masse/charge des ions. Les résultats sont présentés sous la forme d'un spectre de masse, un tracé de l'intensité en fonction du rapport masse/charge. La spectrométrie de masse est utilisée dans de nombreux domaines différents et s'applique aussi bien à des échantillons purs qu'à des mélanges complexes.

Un spectre de masse est un type de tracé du signal ionique en fonction du rapport masse/charge. Ces spectres sont utilisés pour déterminer la signature élémentaire ou isotopique d'un échantillon, les masses des particules et des molécules, et pour élucider l'identité chimique ou la structure des molécules et autres composés chimiques.



Figure II- 25: Spectrométrie de masse haute résolution

Dans une procédure typique de SM, un échantillon, qui peut être solide, liquide ou gazeux, est ionisé, par exemple en le bombardant avec un faisceau d'électrons. Cela peut provoquer la fragmentation de certaines molécules de l'échantillon en fragments chargés positivement ou simplement devenir positivement chargés sans se fragmenter. Ces ions (fragments) sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge, par exemple en les accélérant et en les soumettant à un champ électrique ou magnétique : les ions ayant le même rapport masse/charge subiront la même déviation. Les ions sont détectés par un mécanisme capable de détecter les particules chargées, comme un multiplicateur d'électrons. Les résultats sont affichés sous forme de spectres de l'intensité du signal des ions détectés en fonction du rapport masse/charge. Les atomes ou les molécules de l'échantillon peuvent être identifiés en corrélant des masses connues (par exemple, une molécule entière) aux masses identifiées ou par un modèle de fragmentation caractéristique.

II-2-3. Isolation de l'Heptaméthoxyflavone et de la Nobiletine

Pour l'isolation et la purification des PMFs, nous avons adopté une méthode flash avec l'utilisation de silice (40 g). Pour ce faire, un CombiFlashfi Rf + Lumen (TELEDYNE Isco, Lincoln,

NE, USA), avec ELS intégré et détecteurs à barrettes de diodes a été utilisé.



Figure II- 26: CombiFlash Rf + Lumen (TELEDYNE Isco, Lincoln, NE, USA)

L'évaluation analytique des composants a été réalisée par RP-HPLC en utilisant un système de gradient d'acétonitrile et d'eau (de 30% d'acétonitrile à 100% pendant 30 minutes) avec une colonne Kinetex XB 250 4,6 mm, 5 m (Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA) portant un débit de 1 mL/min, en utilisant un appareil HPLC à double pompe Jasco (PU-2080) (Jasco International Co. Ltd., Hachioji, Tokyo, Japon) équipé et contrôlé avec un détecteur PDA MD-2010 Plus.

L'isolement a été effectué à l'aide d'un système de purification HPLC intégré Armen Spot Prep II (Gilson, Middleton, WI, USA) avec détection à double longueur d'onde. a été mis en œuvre, fonctionnant à 256 et 344 nm. Les séparations préparatives ont été effectuées sur une colonne Kinetex XB 250 4,6 mm, 5 m et une colonne Kinetex Biphenyl 250 21,2 mm, 5 m avec des éluants adaptés.



Figure II- 27: HPLC intégré Armen Spot Prep II (Gilson, Middleton, WI, USA)

Ces méthodes nous ont permis d'obtenir l'exactitude et la précision dont nous avons besoin pour des résultats fiables grâce aux systèmes de purification. Ils nous ont offert un large éventail de composants pour atteindre une grande pureté.

Après la préparation des métabolites secondaire volatils et non volatils en utilisant différentes méthodes chromatographiques, l'objectif suivant sera d'évaluer leurs effets antioxydant, antibactérien et anticorrosion.

II-2-4. Méthodes d'évaluation des activités

II-2-4-1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation du potentiel antioxydant, en termes de IC_{50} (la concentration de l'antioxydant nécessaire pour donner une inhibition de 50 %) a été réalisée par l'effet de piégeage des radicaux libres DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), FRAP (réduction du fer) et le test de blanchiment ABTS (Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)).

Essai de piégeage du radical DPPH

L'essai de neutralisation du radical DPPH a été effectué de la manière rapportée par Lopes-Lutz et al[209]. 2,5 mL d'une série de diverses concentrations d'huile essentielle allant de 0,156 mg/mL à 3,750 mg/mL dissoute dans du méthanol sont ajoutés à la solution de méthanol (1 mL) de DPPH (0,3 mM) dans des tubes à essai. L'incubation des mélanges a été réalisée pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance (abs) des échantillons a été mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre (Perkin-Elmer 45 UV-Visible).



Figure II- 28: Réactif de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) - Sigma-Aldrich

Le pourcentage d'inhibition (I%) du radical DPPH par l'huile essentielle a été comptabilisé en utilisant l'analyse de régression linéaire (ARL) et la formule :

$$I(\%) = \frac{\text{Absorbance du blanc} - \text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du blanc}} \times 100 \quad \text{Eq (II.2)}$$

Détermination du pouvoir réducteur FRAP

La capacité de l'huile essentielle à réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} a été vérifiée par la méthode d'Oyaizu (1986) comme décrit [210]. 1 mL de la concentration de plusieurs échantillons ont été mélangés avec 2,5 mL de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'hexacyanoferrate III de potassium (1%, p/v). Le mélange est incubé dans un bain-marie à 50 °C dans l'obscurité pendant 30 minutes. Ensuite, 2,5 mL d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés pour arrêter la réaction et le mélange est maintenu à température ambiante pendant 10 min par centrifugation à 3000 rpm. Ensuite, une aliquote de 2,5 mL de ce mélange a été mélangée avec 2,5 mL d'eau et 0,5 mL de solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 (0,1%), et mélangée vigoureusement. Puis l'absorbance a été mesurée et lue à 700 nm contre un blanc dans un spectrophotomètre (UV-VIS). Les huiles essentielles ont été diluées dans du Méthanol et chaque détermination a été effectuée en triplicata.

Test de piégeage du radical ABTS

La préparation du radical ABTS a été réalisée en mélangeant 2 mM d'ABTS avec 70 mM de persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). La solution du mélange a été agitée dans l'obscurité pendant une période d'un jour (24 heures) et à température ambiante avant d'être utilisée. Puis une dilution a été poursuivie avec du Méthanol pour avoir une valeur de $0,700 \pm 0,02$ à 734 nm en absorbance. Un volume de 2 mL du mélange et 200 μL d'huile essentielle ont été ajoutés, après un intervalle de 30 min. L'absorbance marquée à 734 nm est notée [211].

II-2-4-2. Évaluation de l'activité antibactérienne

Bactéries et conditions de culture

Cinq bactéries pathogènes issues de la Collection de l'Institut Pasteur (CIP) ont été utilisées dans ce test biologique : deux souches gram-positives (*S. aureus* CIP 483 et *B. subtilis* CIP 5262) et deux souches gram-négatives (*E. coli* CIP 53126 et *S. enterica* CIP 8039). Les souches bactériennes ont été cultivées dans un Bouillon de Soja Tryptic (BST) à 37°C pendant 18h pour avoir des cultures fraîches.



Figure II- 29: Incubateur à CO_2 et incubateur à agitation

Calcul de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les CMI des produits actifs ont été déterminées selon Gulluce et al.[212] avec des modifications mineures. Brièvement, le test a été réalisé dans une microplaque stérile à 96 puits avec un volume final de 200 μ L dans chaque puits (figure II-30).

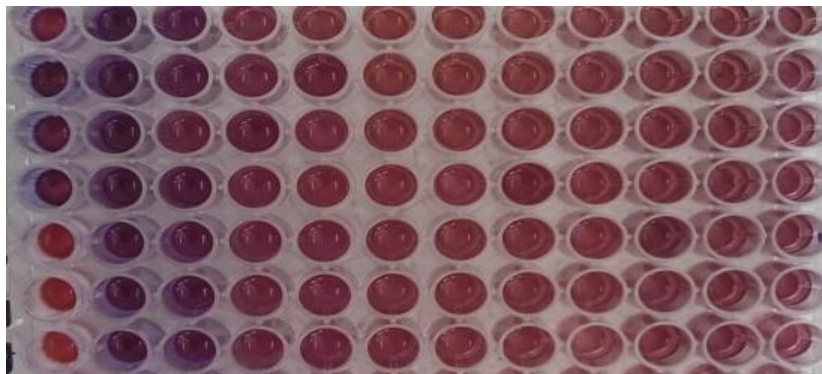


Figure II- 30: Microplaque stérile à 96 puits

Dans un premier temps, 100 μ L du milieu BST ont été placés dans chaque puits de microplaque

(sauf le premier) pour permettre la croissance des bactéries. Ensuite, 200 μL de la solution mère de l'HE ($C_m = 200\mu\text{L}/\text{mL}$) ont été placés dans le premier puits, des dilutions en série ont été réalisées en transférant 100 μL de la solution mère de l'HE dans le deuxième puits. Ensuite, 100 μL des solutions (solution de l'HE + milieu BST) ont été transférés dans le puits suivant et ainsi de suite jusqu'au onzième puits. Par la suite, 10 μL de la suspension ont été ajoutés dans chaque puits ; le dernier puits a été utilisé comme contrôle positif pour la croissance des microorganismes. Les microplaques ont ensuite été recouvertes de couvercles stériles et incubées pendant 24 heures à 37°C.

Comme indicateur de la croissance microbienne, 20 μL de résazurine (1 mg/mL) dissoute dans de l'eau distillée stérile ont été ajoutés à chaque puits et incubés pendant 30 min à 37°. Un changement du bleu au rose indique la réduction de la résazurine et par conséquent, la croissance bactérienne. Toutes les mesures ont été effectuées en triplicata.

II-2-4-3. Évaluation de l'action anticorrosion

La présente partie a pour vocation de présenter les méthodes expérimentales électrochimiques, stationnaires ainsi que non stationnaires, exploitées dans le cadre de ce travail. Une première description des matériaux, des différents électrolytes et des montages choisis permettra tout d'abord de dégager une méthodologie expérimentale assurant une certaine reproductibilité des mesures.

Les techniques électrochimiques seront, par la suite, présentées dans le but de préciser leur intérêt et leur adéquation à l'étude de l'inhibiteur.

Matériau et préparation de l'échantillon

Le matériau en acier doux C38 a été choisi dans cette étude. La composition a été vérifiée en utilisant la technique de MEB (Microscopie électronique à balayage).

Milieu d'étude

Le milieu agressive HCl a été choisi dans cette étude. Une concentration 1M a été préparée par dilution.

Tout d'abord, L'estimation de l'efficacité de l'inhibiteur vert a été évaluée par la méthode traditionnelle (perte de poids).

A). La méthode gravimétrique

La méthode traditionnelle est encore largement utilisée dans l'évaluation de l'inhibition de la corrosion pour estimer l'efficacité d'un inhibiteur potentiel.

Le premier objectif de l'essai de perte de poids était d'obtenir une idée du citrus, de savoir s'il peut être utilisé comme inhibiteur de corrosion dans notre cas. Pour ce faire, On considère le temps d'immersion requis pour évaluer la perte de poids de l'acier doux après l'exposition à un milieu agressif HCl.

Les matériaux en acier doux uniformes ont été minutieusement préparés. Nous avons d'abord pesé le spécimen, puis nous l'avons plongée dans 100 mL avec et sans ajout de l'inhibiteur testé. Plusieurs concentrations ont été préparées.

Finalement, le spécimen est retiré de la solution avec une pince avec précaution, ensuite laver avec de l'eau distillée, puis avec de l'acétone, et sécher avec un air chaud. Lors de ce dosage, le paramètre fondamental est le calcul de ΔW en utilisant l'unité de mg. Les expériences ont été effectuées dans un environnement agressif.

On a calculé l'efficacité d'inhibition de citrus en utilisant les équations suivantes :

$$IE_{WL} \% = \left(\frac{W_{corr}^0 - W_{corr}^{inh}}{W_{corr}^0} \right) \times 100 \quad \text{Eq (II.3)} \quad W_{corr} = \frac{\Delta m}{S \times t} \quad \text{Eq (II.4)}$$

Où W_{corr}^0 et W_{corr}^{inh} représentent la vitesse de corrosion en l'absence d'inhibiteur et en présence de l'inhibiteur. Δm , S et t décrivent respectivement la moyenne de la perte de poids avant et après l'immersion (mg), la surface totale (cm²) et le temps d'immersion (h).

B). Méthodes électrochimiques

Les études électrochimiques offrent des informations pertinentes sur le mécanisme d'action de la substance inhibitrice et, si elles sont bien exploitées, sur la vitesse du processus de corrosion au temps de la mesure, ce qui implique en toute hypothèse de faire une étude en fonction du temps. Les procédés électrochimiques utilisés au cours de nos travaux se répartissent en deux groupes bien différenciés : les méthodes stationnaires et les méthodes non stationnaires nommées transitoires.

Appareillage

Les différents appareils utilisés pour nos analyses électrochimiques sont : Origaflex Potentiostat/Galvanostat (OGF05A) pilotés par un ordinateur (Origamaster5) qui permet l'acquisition et le traitement des données à l'aide des logiciels : Volta Master 4, Origine 6 et EC Lab. L'appareil est constitué d'une cellule électrochimique de double paroi en verre qui a un volume de 50 ml. La double

paroi permet la régulation de la température par l'intermédiaire d'un bain thermostaté ; Une électrode de référence au calomel saturée ; Une contre électrode en platine, de grande surface ; Une électrode de travail, constituée d'acier C38 de surface de 1 cm^2 .



Figure II- 30 : Montage expérimental d'étude électrochimique

Méthode stationnaire : Courbes de Polarisation (PDP)

Un élément métallique immergé au sein d'un milieu électrolytique quelconque aurait tendance à se dissoudre et à être chargé électriquement par création d'une double couche électrochimique assimilée à un condensateur électrique. Après avoir été suffisamment long pour qu'un système stationnaire se mette en place, l'électrode métallique adopterait un potentiel, nommé potentiel de corrosion (E_{corr}). Ce potentiel ne pourra être connaissable qu'en valeur absolue. Il est référé à une électrode de référence.

En faisant passer, à l'aide d'un générateur externe et d'une contre électrode, un flux de courant à travers cette électrode métallique, son équilibre stationnaire est alors modifié, sa surface adopte une nouvelle valeur de potentiel. Les courbes $E = f(I)$ ou $i=f(E)$ composent les courbes de polarisation [213].

Le calcul de la vitesse de corrosion depuis les courbes de polarisation repose uniquement sur le système cinétique qui dirige le processus de corrosion électrochimique (activation pure, diffusion ou cinétique mixte).

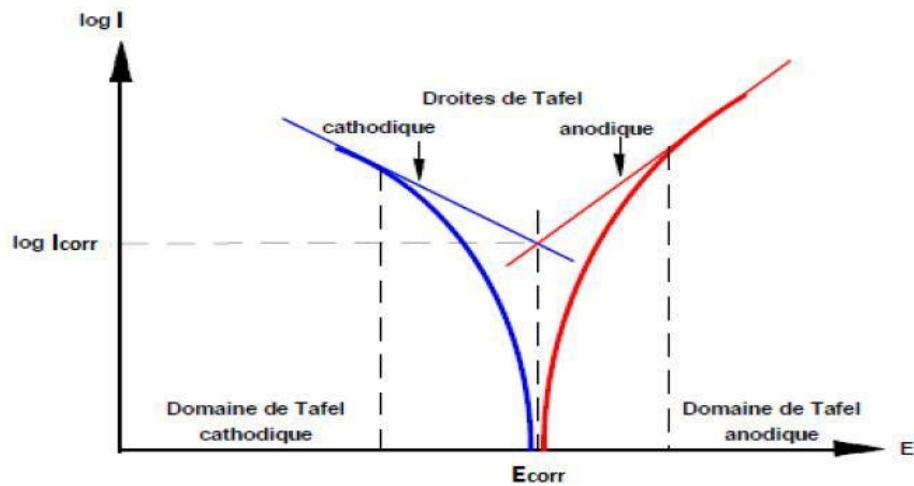


Figure II- 31: Représentation schématique linéaire et semi-logarithmique des courbes courant-tension caractéristique d'une cinétique d'activation pure

Méthode non stationnaire : Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE)

La spectroscopie d'impédance électrochimique constitue une méthode non stationnaire qui renseigne sur les étapes élémentaires qui forment l'ensemble du processus électrochimique [219]. Leur principe repose sur la superposition d'une modulation sinusoïdale de basse amplitude au potentiel de l'électrode ainsi que sur le suivi de la performance du courant pour diverses fréquences du signal de perturbation.

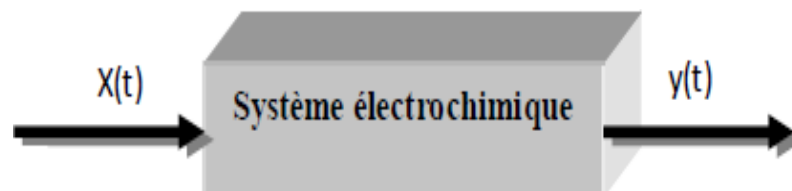


Figure II- 32: Schéma d'une fonction de transfert [220]

Dans une démarche classique, la perturbation appliquée est de type sinusoïdal. Ainsi le signal qui lui est soumis est de la forme $x(t)=A\sin(\omega t)$ et le comportement du système est $y(t)=B\sin(\omega t+\varphi)$ dont la fréquence est f , la pulsation $\omega=2\pi f$ et dont le déphasage est φ .

L'impédance électrochimique du système est alors définie comme étant le nombre complexe $Z(\omega)$ qui résulte du rapport :

$$Z(\omega) = \frac{\Delta E(\omega)}{\Delta I(\omega)} \quad \text{Eq (II.5)}$$

Dans le cas du mode potentiostatique, $\Delta E(\omega)$ représente la perturbation soumise à un potentiel donné E_0 , et $\Delta I(\omega)$ constitue la réponse en courant du système examiné avec une composante continue I_0 (Figure II-33). On peut éventuellement utiliser le mode galvanostatique, en ce cas, c'est

une perturbation de courant de petite amplitude qui est soumise au système et c'est la réponse en potentiel qui sera alors mesurée.

On définit la fonction de transfert en termes d'impédance sous la contrainte que le système est linéaire et que son interface est bien stable dans le temps.

Au cours de la caractérisation de la corrosion par SIE, les réponses de l'interface sont étudiées au voisinage de son point de fonctionnement (généralement le potentiel de corrosion) grâce à un signal de basse amplitude de l'ordre de 5-10 mV.

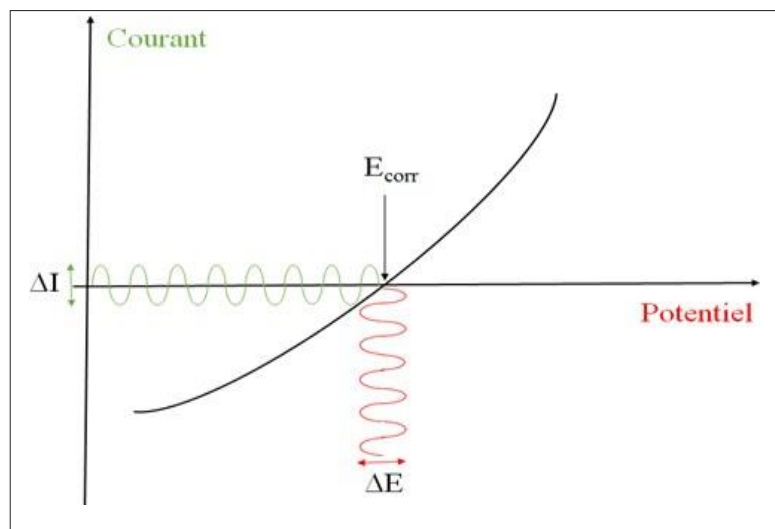


Figure II- 33: Perturbation d'un système électrochimique non linéaire à E_{corr} avec $I_0=0$.

La représentation de ces deux éléments composant polaires, et ϕ , comme fonction de la fréquence w est dénommé diagramme de Bode (Figure II-34), en revanche la représentation sur le plan complexe (Z_r vs. Z_j) reçoit le nom de diagramme de Nyquist. Une analyse du diagramme d'impédance relatif au système électrochimique renseigne, sous la forme de capacités et de résistances, les procédés électrochimiques qui se déroulent à l'interface.

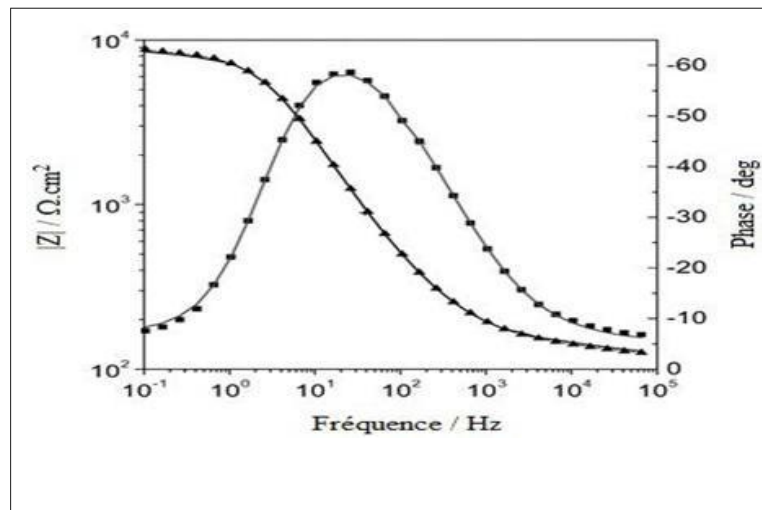


Figure II- 34: Exemple de diagrammes de Bode.

Suivant le circuit équivalent à qui correspond l'interface électrochimique, un diagramme de Nyquist différent sera alors obtenu, sur lequel les principaux profils sont récapitulés dans la figure II-35. Dans celle-ci sont illustrés les profils des courbes d'impédance prévus pour différents circuits équivalents. Pour un circuit équivalent comprenant une résistance en série et un condensateur, le spectre d'impédance, traduit sous forme de Nyquist. En ce qui concerne un circuit équivalent dans lequel une résistance est placée en parallèle avec un condensateur. Bien plus complexe encore est le circuit équivalent de Randles. Mais au sein duquel une impédance, nommée impédance de Warburg, se trouve en série par rapport à la résistance du circuit en propre parallèle. L'impédance de Warburg constatée à basse fréquence est celle associée aux processus de diffusion très lents des espèces ioniques à partir de l'interface électrode/électrolyte jusqu'à la solution.

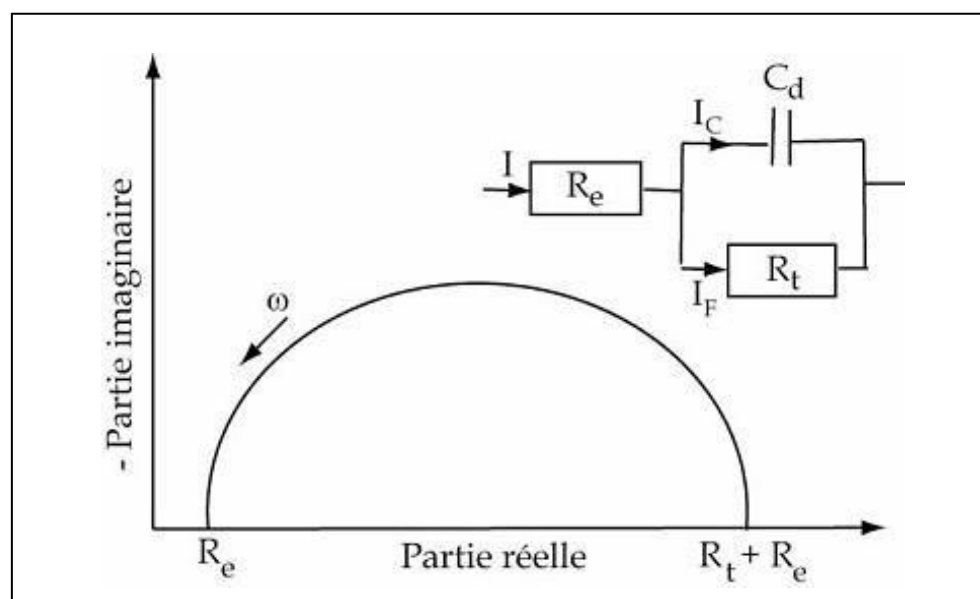


Figure II- 35: Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, dans le cas d'un processus de transfert de charge [223]

La valeur de la résistance R_e du montage de circuit de Randles est fonction de la résistance de l'électrolyte à conductivité finie. En effet, dans le milieu d'étude sélectionné, la teneur en ions sulfates est assez importante pour permettre une bonne conductivité de l'électrolyte et donc obtenir une faible valeur de R_e . Par ailleurs, sur le diagramme de Nyquist, quand la fréquence a tendance à l'infini ($\omega \rightarrow \infty$), la valeur de l'impédance globale du système est uniquement égale à la résistance de l'électrolyte. En effet, le phénomène de charge des interfaces électrode/solution entraîne l'apparition d'un courant capacitif (représenté par la capacité constatée C_d). La résistance de transfert de charge R_{ct} est parcourue par ce courant faradique. Dans le cas où il n'y a pas d'autre réaction que le transfert électronique, R_t est considérée comme la résistance de transfert de charge.

En raison de la mise en évidence d'hétérogénéités à la surface de l'électrode, il est parfois difficile de modéliser la boucle capacitive haute fréquence au moyen d'un circuit électrique équivalent. En effet, les sites de réaction sont alors répartis de manière non uniforme et le demi-cercle qui représente la résistance de transfert de charge ainsi que la capacité de la double couche selon le plan de Nyquist se trouve aplati (figure II-35) [224].

Modéliser le comportement de la double couche par une capacité se révèle imparfait. Il devient alors nécessaire de greffer à cette capacité une constante de temps appelée, élément constant de phase (ECP) et qui est symbolisée par la valeur de n . Si n est voisin de 0, l'ECP constitue une résistance, si la valeur est voisine de -1, le comportement est alors celui d'une inductance et finalement pour $n = 0,5$, on obtient un résultat équivalent à l'impédance de diffusion de Warburg [225][226].

II-2-4-4. Outils de caractérisation et d'analyse morphologique

Les modèles d'isotherme d'adsorption sont considérés comme un outil important pour décrire l'interaction des inhibiteurs de corrosion avec la surface des métaux qu'ils sont censés protéger. Une plus grande attention sera accordée aux informations utiles que l'on peut en tirer. L'utilisation de différents outils pour décrire la morphologie du matériau est considérée comme un travail complémentaire. La caractérisation de la surface en termes d'aspect a été effectuée avec l'intervention de citruses et en l'absence de cet agent réducteur a été réalisée par les techniques suivantes.

Spectroscopie ultraviolette

L'analyse spectroscopique UV-vis est considérée comme un outil d'intérêt pour examiner les spectres d'absorption des solutions. Nous avons utilisé l'appareil de mesures spectrales UV en premier lieu pour commencer notre caractérisation. Les mesures ont été calculées avec un instrument V-730,

dans la gamme de 1100 - 190 nm, avec une vitesse de balayage de 400 nm/min et une largeur de bande de 1.0 nm, la réponse est de 0.06 sec et la source de changement était à 340 nm.

Analyse SEM/EDS

La surface de l'échantillon a été étudiée par un outil pertinent, la microscopie électronique à balayage (SEM). Nous avons caractérisé la morphologie dans deux cas différents, avant et après l'ajout de l'agent réducteur. La concentration optimale a été testée avec le milieu agressif seul. Une période de 24 heures d'immersion a été prise avant de procéder à la caractérisation. La morphologie a été photographiée par SEM Quanta 250 avec un filament de tungstène. Une valeur ajoutée dans notre étude est que, notre MEB était équipé d'un EDS, ce qui signifie que nous avons fait à la fois une étude morphologique et une analyse chimique de la surface de notre spécimen.

Évaluation de la méthode théorique

Le but ultime de ce travail est d'incorporer à la fois la modélisation et le travail expérimental pour assurer l'efficacité et la qualité de notre inhibiteur écologique. La corrélation semble intéressante et a un grand intérêt à trier avec un résultat complet. Nous avons étudié à la fois la théorie de la fonction de densité et la réactivité de la dynamique moléculaire, abrégées en DFT et MDR. Tout d'abord, nous avons évalué le mode d'action de notre composé majeur représentant 82% de notre échantillon, qui est le d-limonène, sur le spécimen étudié en utilisant la méthode de phase aqueuse de la DFT. En outre, comme nous l'avons mentionné précédemment, nous avons l'intention d'établir une corrélation entre les deux, les indices de réactivité chimique et les résultats expérimentaux, l'efficacité de notre inhibiteur. La suite logicielle Gauss.09 au niveau DFT/B3LYP/6-31G (d, p) a été l'outil approprié pour optimiser la forme géométrique de la structure moléculaire de l'agent réducteur. Les énergies, E_{LUMO} , E_{HOMO} , la différence, l'électronégativité globale " χ ", la dureté globale " η " et les électrons transportés des orbitales occupées de la molécule organique aux orbitales inoccupées de la surface métallique " ΔN_{110} ".

$$\Delta E_{gap} = E_{LUMO} - E_{HOMO} \quad \text{Eq (II.6)}$$

$$\chi = \frac{1}{2}(E_{HOMO} + E_{LUMO}) \quad \text{Eq (II.7)}$$

$$\eta = \frac{1}{2}(E_{HOMO} - E_{LUMO}) \quad \text{Eq (II.8)}$$

$$\Delta N_{110} = \frac{\chi_{Fe_{110}} - \chi_{inh}}{2(\eta_{Fe_{110}} + \eta_{inh})} = \frac{\Phi - \chi_{inh}}{2\eta_{inh}} \quad \text{Eq (II.9)}$$

L'interaction de l'inhibiteur étudié, le d-limonène sur le système Fe (110) est étudiée en utilisant le deuxième outil de dynamique moléculaire de réactivité, abrégé en MDR. Le logiciel Materials Studio2016 avec l'extension du module Forcite a été essayé pour réaliser cette simulation [22,23]. Nous avons étudié le phénomène d'interaction à partir d'une boîte de simulation (27,30 * 27,30 * 37,13 Å³) en utilisant un modèle de dalle à 6 couches dans chaque couche avec une représentation à (11×11) cellule unitaire. La boîte de simulation établie est vidée de 27,13 Å³. 500 H₂O, 5 H₃O⁺, 5 Cl⁻ et le réducteur remplissent ce vide. Nous avons contrôlé la température du système à 298 K par le dispositif du thermostat d'Andersen, ensemble NVT, avec un temps de simulation de 600 ps et un pas de temps de 1.0 fs, le tout sous le champ de force COMPASS.

Conclusion

Au terme de cette section, nous avons eu l'opportunité de présenter en détail les différentes méthodes et protocoles employés pour l'extraction et la séparation des métabolites secondaires issus de la matrice de citrus. De même, nous avons examiné les techniques utilisées pour évaluer leur activité antioxydante, antibactérienne et anticorrosion. En outre, nous avons initié cette exploration par un aperçu approfondi de la plante de citrus, en se concentrant particulièrement sur la variété de *Citrus reticulata*. Cette démarche nous a permis d'établir une identification précise et une cartographie détaillée de la matière première, qui a constitué le point de départ de nos expérimentations. Dans le chapitre suivant, nous aurons l'occasion de présenter en détail les résultats obtenus au cours de ce travail et de les interpréter en les comparant aux études précédentes.

Chapitre III :

Évaluation des activités

biologiques

Introduction

Cette section se concentre sur les résultats d'analyse des méthodes de récupération des métabolites secondaires de *Citrus reticulata*. L'hydrodistillation est utilisée pour l'extraction des huiles essentielles (HEs), tandis que la chromatographie est employée pour isoler les polyméthoxyflavones (PMFs). En outre, nous évaluerons les activités biologiques, notamment l'activité antioxydante à l'aide des tests DPPH-ABTS-FRAP et l'activité antibactérienne à travers le test CMI.

III. Préparation et caractérisation des métabolites secondaires

III-1. Extraction des huiles essentielles

L'hydrodistillation a été utilisée pour extraire l'huile essentielle de *Citrus reticulata*. Le rendement obtenu était respectueux, autour de 2,13%. La caractérisation et l'identification ont été menées par chromatographie en phase gazeuse avec l'aide de la spectroscopie de masse comme détecteur. Le composé principal était le d-limonène avec un pourcentage de 82%. D'autres composés ont été reconnus dans notre échantillon mais en faibles quantités. Le d-limonène reste le composant crucial.

III-2. Composition chimique des huiles essentielles

L'examen réalisé par chromatographie en phase gazeuse sur l'huile essentielle conduit à dix constituants différents avec un pic intense à 8,71 minutes représentant le composant majeur (Figure III-1).

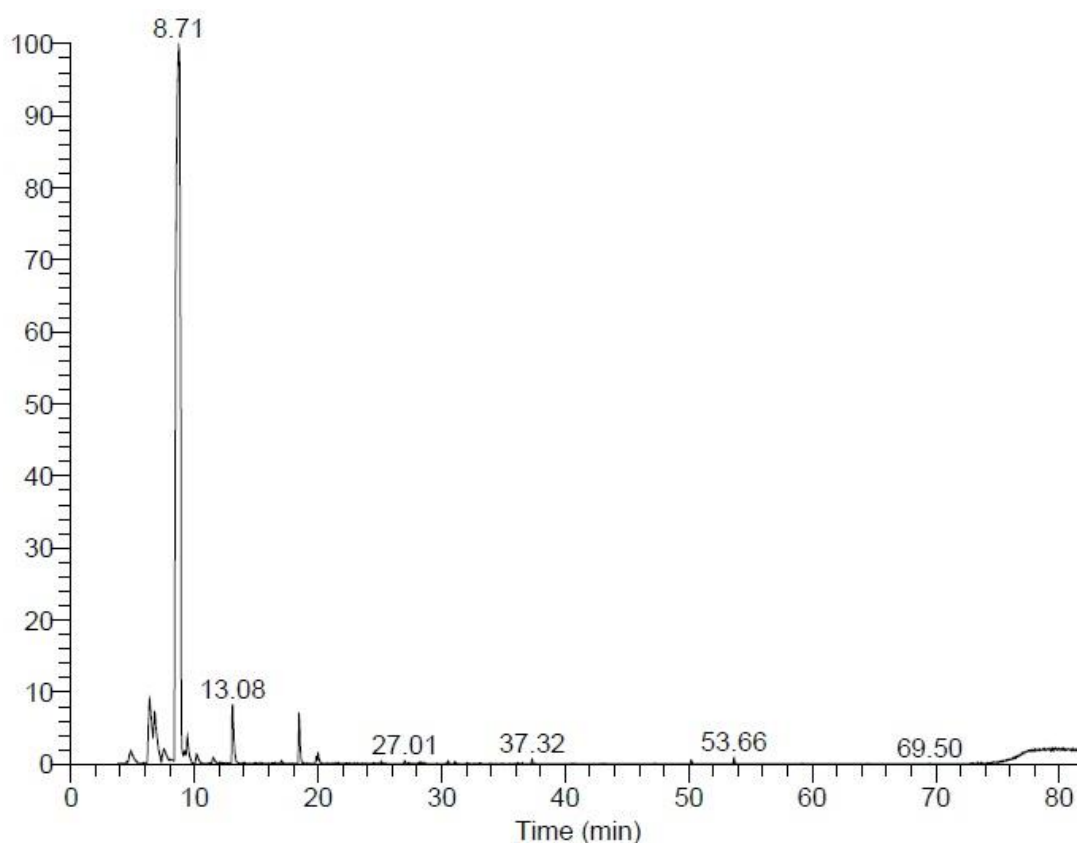


Figure III- 1: Spectre GC-MC de Citrus Reticulata.

Le tableau ci-dessous (Tableau III-1), résume les différents composés présents dans l'huile essentielle de *Citrus reticulata* avec la quantité des constituants prédominants et mineurs.

Tableau III- 1: Composition chimique de Citrus Reticulata.

Constituents d'HE	Temps de rétention (min)	Indice de Kovats (KI)	Pourcentage (%)
α-Pinene	6.36	934	9.48
α-Ocimene	7.51	1028	0.74
d-Limonène	8.71	1030	82
γ - terpinene	10.17	1058	0.60
Linalool	13.08	1099	2.89
Citronellal	17.01	1153	0.12
Terpinen-4-ol	18.46	1177	1.88
α-Terpineol	19.99	1191	0.61
γ -Muurolene	37.32	1479	0.14
Caryophyllene	50.19	1592	0.13
Total			98.59
Hydrocarbures totaux non oxygénés			93.09
Hydrocarbures totaux oxygénés			05.50

Comme il est mis en évidence dans le tableau ci-dessus, l'échantillon présent est

composé principalement d'hydrocarbures monoterpènes comme la majorité de l'huile essentielle (Figure III-2).

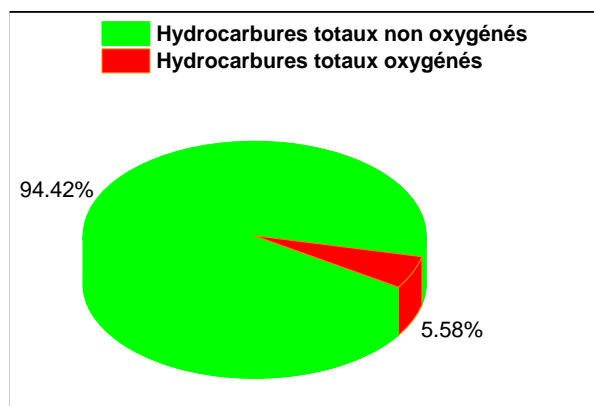


Figure III- 2: Familles chimiques Pourcentage d'huile essentielle.

Le d-limonène était le constituant prédominant avec une présence de 82%, ce qui est en corrélation avec les études antérieures qui ont mentionné que ce constituant domine le profil de l'huile essentielle de cette espèce [232,233] . Nous avons trouvé en second lieu l'alpha-pinène (9,48%), puis le linalol (2,89%) (Figure III-3).

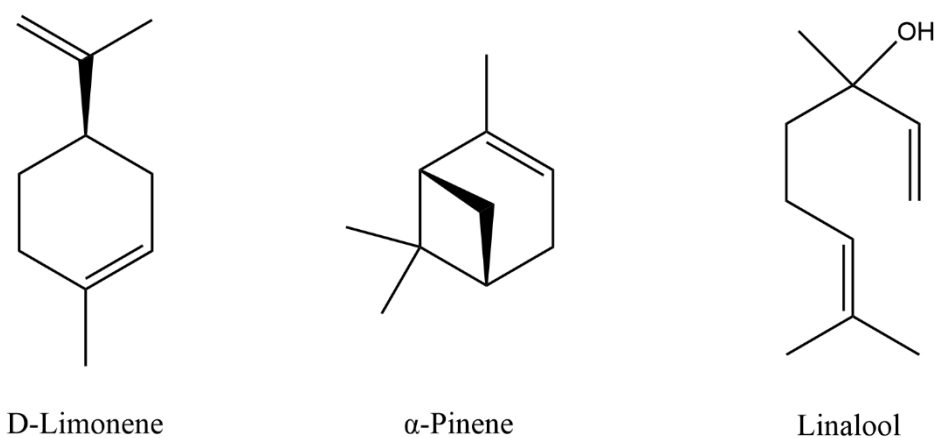


Figure III- 3: Structures chimiques des principaux composés de Citrus Reticulata.

Le profil chimique de l'huile essentielle obtenue est volontairement incliné et modifié par la période de récolte. D'autres paramètres, tels que le stade végétatif de la plante[234] , l'état de la matière première (sèche ou fraîche)[235] , le mode d'extraction, les conditions de stockage, etc[236,237] . La cohérence des résultats a été trouvée dans notre travail réalisé précédemment (Najem et al) [26] qui confirme que le composé le plus abondant dans l'extrait était le d-limonène, égal à 82% dans les fruits récoltés en novembre, 88% en décembre, et 80% en janvier[238].

III-3. Séparation, purification et élucidation structurelle des polyméthoxyflavones

En combinant une variété de techniques chromatographiques, 5 polyméthoxyflavones ont été obtenues, dont la nobiletine et l'heptaméthoxyflavone prédominent l'extrait.

Isolement de la nobiletine et de l'heptaméthoxyflavone

Après une extraction liquide-liquide, et l'obtention de 4 fractions (hexanoïque, chloroformique, éthyle-acétate et méthanol), tous ces fractions seront soumises pour une analyse HPLC afin de sélectionner la meilleure fraction présentant les meilleurs composés. 1 mg a été préparé depuis chaque fraction et solubilisé dans 1 mL de méthanol.



Figure III- 4: Analyse des fractions obtenues par HPLC-PDA

Une analyse sur HPLC-PDA en utilisant comme phase mobile, un système de gradient d'acétonitrile et d'eau, en commençant par 30% d'acétonitrile et 70% d'eau, pendant 30 min. Et comme phase stationnaire, la colonne Kinetex XB 250 4,6 mm, 5 m a été utilisée. La fraction chloroformique a été sélectionnée pour les prochaines études. (Figure III-5)

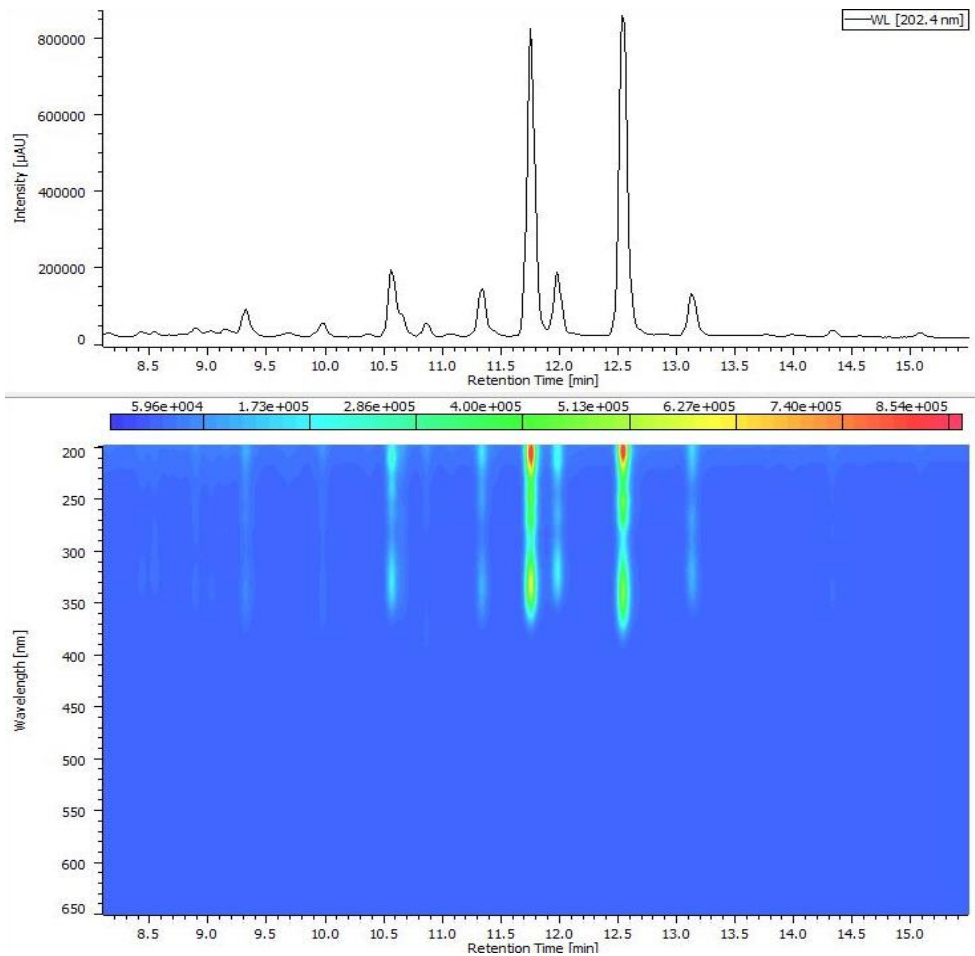


Figure III- 5: HPLC-PDA de la fraction chloroforme de *citrus reticulata*)

La plupart des composés organiques semblent possédant les mêmes absorbances en se basant sur le PDA. En addition, la conclusion extraite pourra être confirmée par les spectres UV suivant.

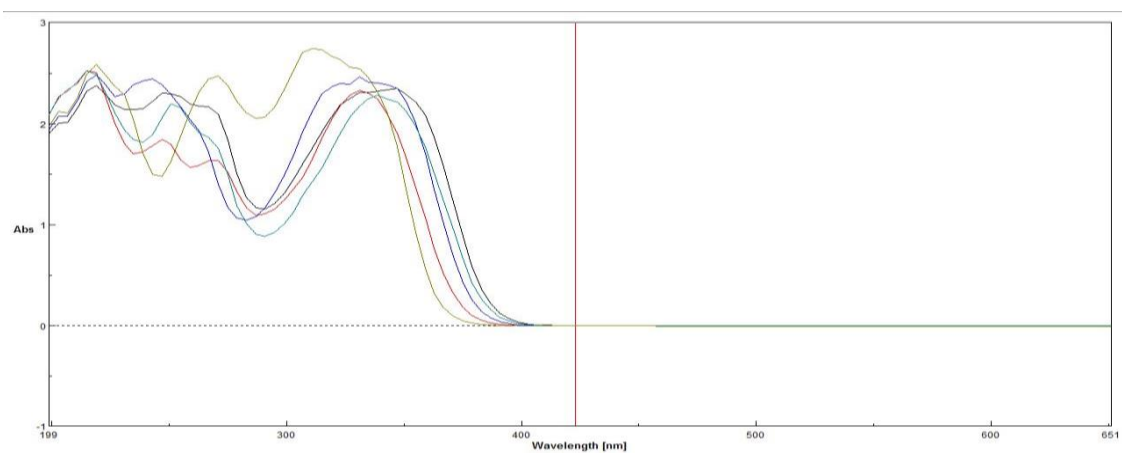


Figure III-6 : Spectres UV des composés présents

Notre cible sera l'isolation des 2 composés prédominants afin d'étudier leurs

importances pharmaceutiques.

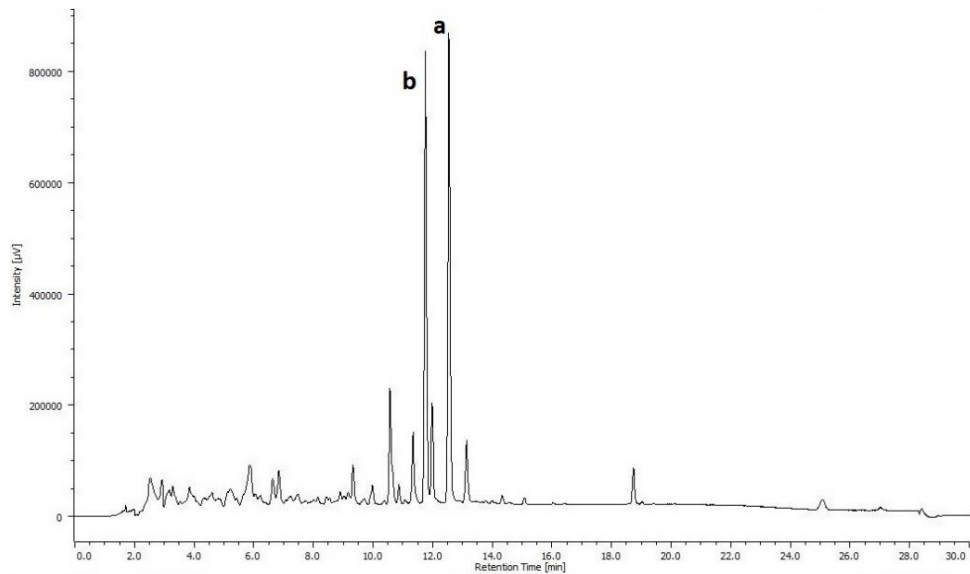


Figure III- 6: Chromatogramme HPLC de la fraction chloroforme de *Citrus reticulata*

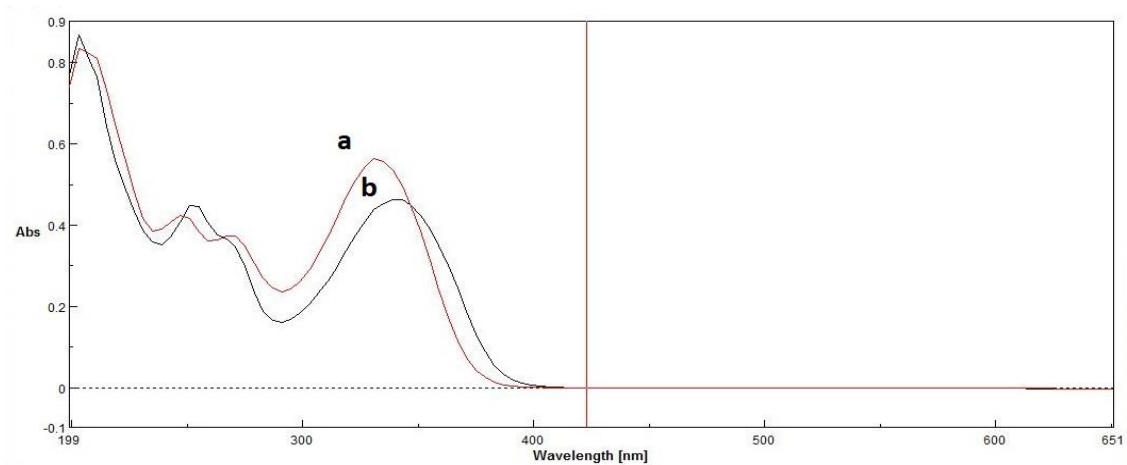


Figure III- 7: Spectre UV des composés a et b de *Citrus reticulata*

Une phase normale avec 50% DCM et 50% d'acétate d'éthyle a été le système d'élution trouvé par CCM analytique.

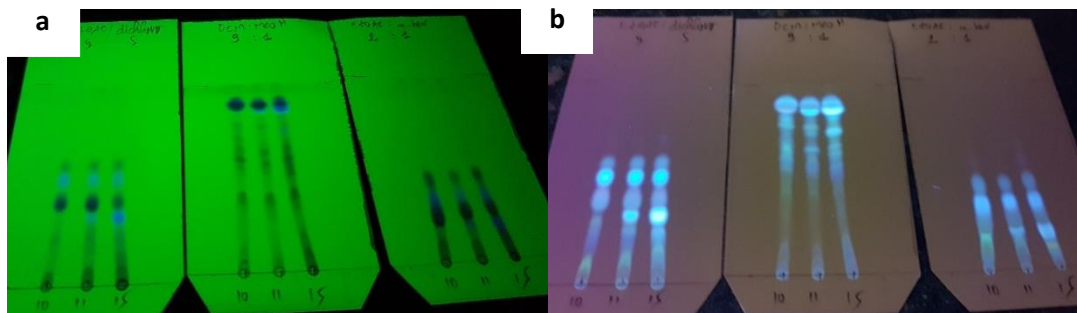


Figure III- 8: CCM de la fraction CHCl_3 avec différents systèmes d'élution (a:254 nm, b:366 nm)

Avant de passer à la séparation sur flash chromatographie, la fraction chloroformique a été absorbé sur le gel de silice afin de produire une matière sèche capable d'être soumis à la séparation.



Figure III- 9: Préparation de la matière sèche avant soumission au flash chromatographie

Après la préparation de la matière sèche, l'étape suivante sera de la charger dans une cartouche de flash et la déplacer sur une colonne remplie de gel silice et préparer le système d'élution.



Figure III- 10: Chargement de la matière sèche sur la cartouche

L'utilisation du système obtenu sur chromatographie flash (80 g de gel de silice) avec un gradient a conduit à l'obtention de l'heptaméthoxyflavone avec une pureté de 92% et d'autres polyméthoxyflavones.



Figure III- 11: Système d'éluion de la fraction CHCl₃ sur flash chromatographie

L'utilisation de Prep-HPLC avec 60% d'acétonitrile et 40% d'eau, en utilisant la même colonne a conduit à l'obtention d'une grande pureté d'Heptaméthoxyflavone, ainsi qu'à la séparation de deux autres polyméthoxyflavones nommées, sinensetin et tangeretine.

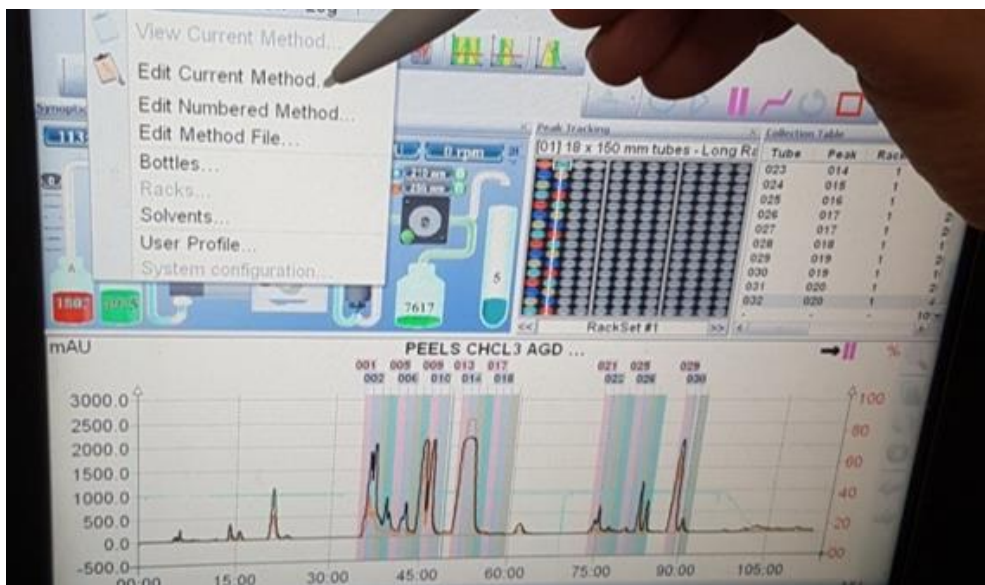


Figure III- 12: Systeme d'éluion sur prep-HPLC

L'utilisation de la colonne Kinetex Biphenyl 250 21.2 mm, 5 m avec 55% d'acétonitrile et 45% d'eau dans une HPLC semi-préparative nous a permis l'obtention et la purification de la Nobiletine et de la Hexaméthoxyflavone.



Figure III- 13: Différence entre colonne préparative et colonne semi-préparative

En fin, nous étions capables de retenir 5 polyphénols, ils appartiennent à la même catégorie, ce sont des polyméthoxyflavones.



Figure III- 14: Les 5 PMFs isolés de la fraction CHCl_3 de *Citrus reticulata*

La figure ci-dessous résume les 5 composés obtenus avec le temps de rétention correspondant au même système utilisé lors de la première investigation.

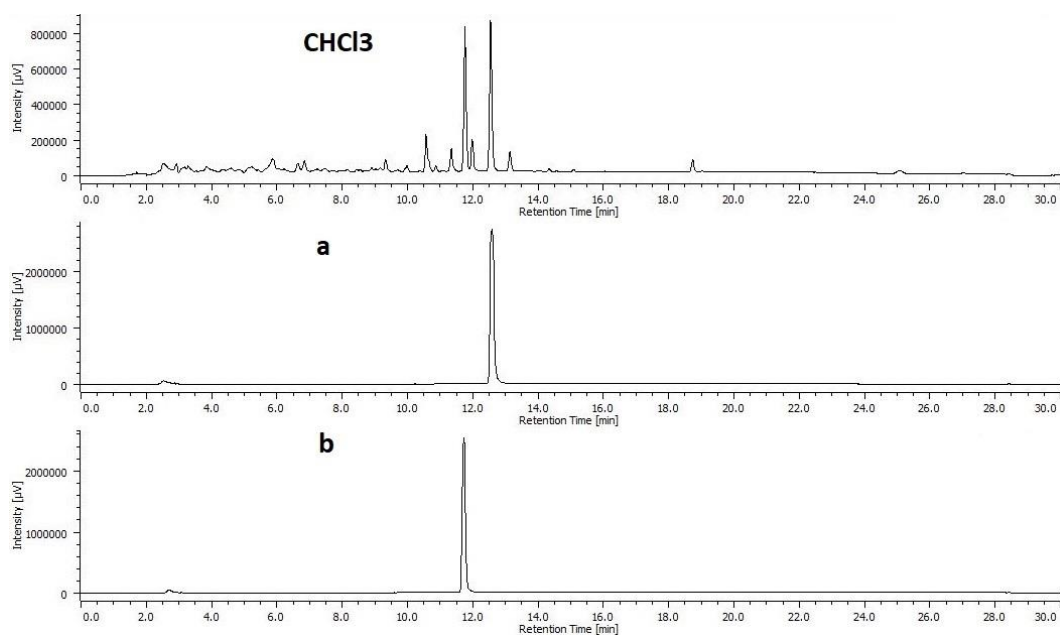


Figure III- 15: HPLC-PDA de la fraction chloroforme, du composé a et du composé b

En utilisant $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ et MS-ESI , l'élucidation de la structure de cinq polyméthoxyflavones a été déterminée et sous-dessous les deux structures principales.

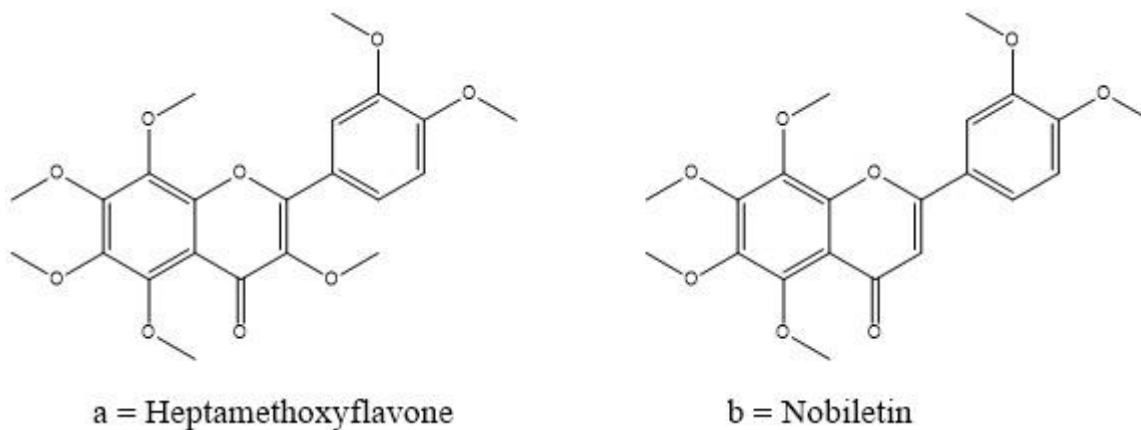


Figure III- 16: Structures des 2 principaux PMFs de *citrus reticulata*

Heptamethoxyflavone:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.83 (d, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.01 (d, 1H), 4.09 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.97 (s, 9H), 3.94 (s, 3H), 3.88 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ = 173.99, 153.24, 151.43, 151.23, 148.94, 148.35, 146.87, 143.99, 140.91, 137.98, 123.62, 122.07, 115.25, 111.22, 111.14, 62.43, 62.08, 61.98, 61.81, 59.99, 56.13, 56.06.

MS-ESI (MH^+) m/z = 433.14861

Nobiletin:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.57 (d, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.99 (d, 1H), 6.61 (s, 1H), 4.10 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.95 (s, 6H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ = 177.47, 161.18, 152.10, 151.57, 149.48, 148.58, 147.87, 144.25, 138.18, 124.20, 119.77, 115.03, 111.41, 108.76, 107.05, 62.40, 62.10, 61.97, 61.81, 56.24, 56.13.

MS-ESI (MH^+) m/z = 403.13795

Sinensetin:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.51 (d, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.97 (d, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 3.99 (s, 6H), 3.98 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.91 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ = 177.33, 161.28, 157.81, 154.66, 152.77, 151.98, 149.45, 140.53, 124.31, 119.74, 113.06, 111.31, 108.86, 107.58, 96.40, 62.34, 61.69, 56.46, 56.29, 56.23.

MS-ESI (MH^+) m/z = 373.12734

Hexamethoxyflavone:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.70 (s, 2H), 6.98 (d, 1H), 6.74 (s, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.96 (s, 6H), 3.91 (s, 3H), 3.87 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ = 173.78, 157.80, 153.70, 153.40, 152.61, 151.11, 148.90, 140.96, 140.31, 123.53, 121.87, 113.30, 111.52, 110.99, 96.15, 62.35, 61.71, 60.09, 56.46, 56.25, 56.13.

MS-ESI (MH^+) m/z = 403.13780

Tangeretine:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.87 (d, 2H), 7.02 (d, 2H), 6.6 (s, 1H), 4.09 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.94 (s, 6H), 3.88 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ = 177.52, 162.45, 161.35, 151.53, 148.55, 147.89, 144.23, 138.24, 127.87, 124.01, 115.04, 114.67, 106.85, 62.40, 62.17, 61.97, 61.80, 55.64, 39.69, 26.47.

MS-ESI (MH^+) m/z = 373.12734

L'objectif de la prochaine partie, est d'étudier la teneur des 5 PMFs isolés en se basant sur 3 régions différentes. Une comparaison entre 3 régions du Maroc (Berkane, Marrakech et Agadir) a montré une différence remarquable qui vient de plusieurs paramètres régionaux.

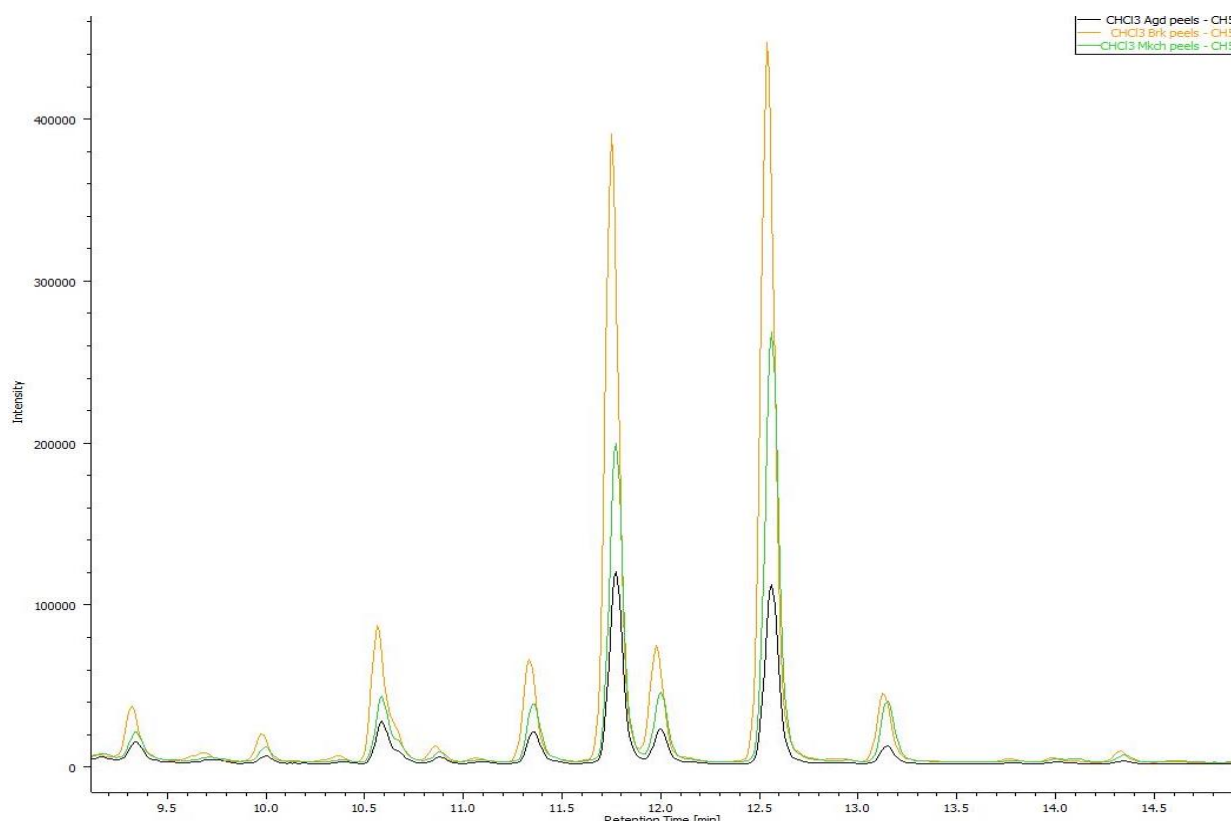


Figure III- 17: Comparaison de la teneur des PMFs entre 3 régions producteurs de *citrus reticulata* au Maroc

On voit bien que la région de Berkane enregistre la meilleure matrice présentant une teneur importante des polyméthoxyflavones suivi de la région de Marrakech et dernièrement la région d'Agadir.

Les résultats obtenus peuvent être expliqués par les facteurs climatiques comme le sol, l'humidité, la température, l'air... La région de Berkane attire plus d'attention par rapport aux autres régions étudiées. Celui-ci, peut jouer un rôle assez important pour attirer les investisseurs de prendre cette matière depuis cette région.

Une deuxième comparaison a été étudiée entre les composés présents en écorce et les composés présents en feuilles de *Citrus reticulata*.

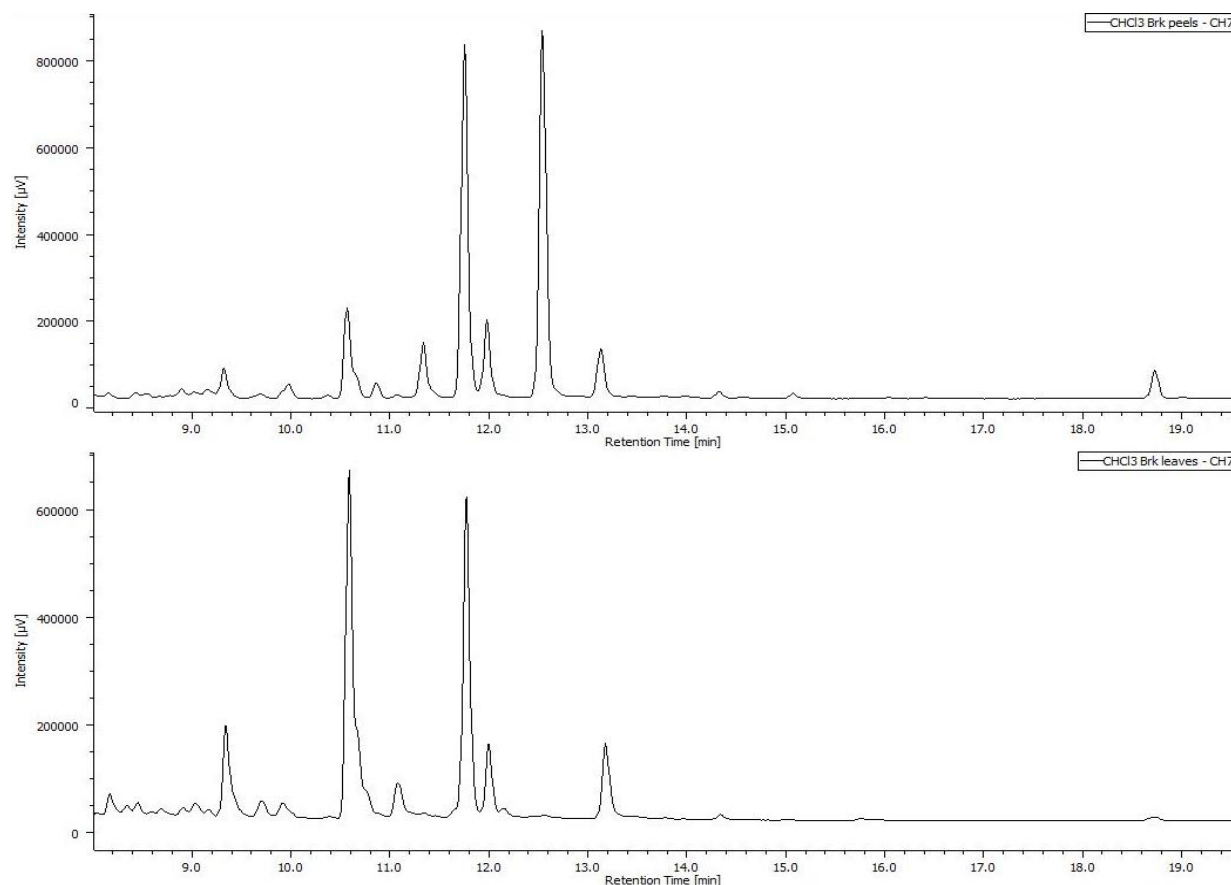


Figure III- 18: Chromatogramme HPLC de la fraction chloroforme des écorces et des feuilles de *Citrus reticulata*

En se basant sur l'identification précédente, il convient que les feuilles ne contiennent pas du composé d'Heptaméthoxyflavone. D'autre part, le Nobiletin se trouve le prédominant avec le Sinensetin dans les feuilles de citrus.

III-4. Activités biologiques

III-4-1. Activité antioxydante

Un certain nombre de rapports ont recommandé l'utilisation des huiles essentielles comme antioxydants naturels dans les secteurs alimentaire et pharmaceutique en raison de leurs activités antioxydantes combinées prometteuses et de leur dossier toxicologique assez sûr[239].

Test DPPH

Le taux d'inhibition du DPPH par l'huile essentielle, varie de 12,49-83,36% pour une concentration comprise entre 0,15-3,75 mg/mL, avec une valeur IC_{50} de 2,01 mg/mL (Figure III-19).

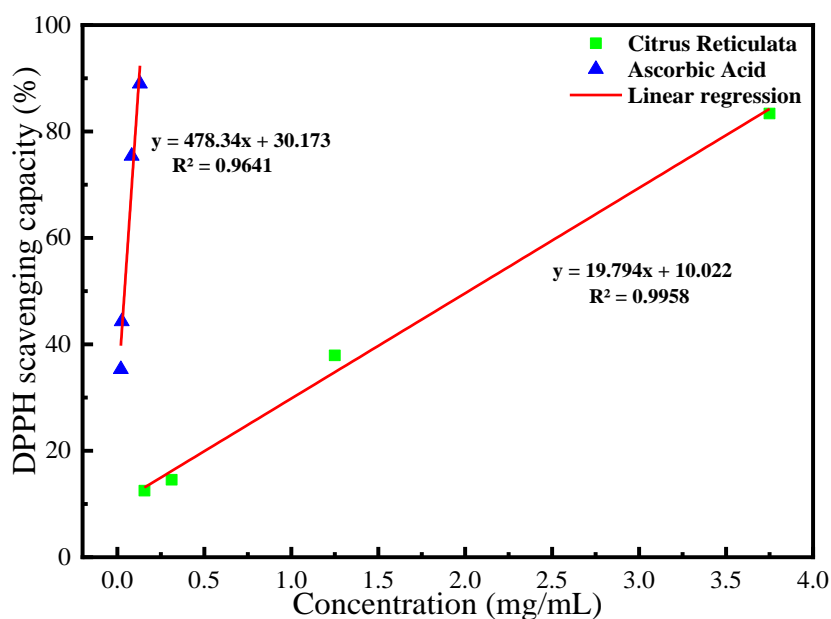


Figure III- 19: Activité de piégeage des radicaux diphenyl-1-picarylhydrazyl (DPPH) de l'huile essentielle.

Les résultats obtenus en utilisant le test DPPH, révèlent que la IC_{50} de l'huile essentielle atteint la valeur de 2,01 mg/mL. Ces résultats semblent être meilleurs que ceux de certaines études précédentes[240] montrant une faible activité de piégeage des radicaux DPPH avec de faibles pourcentages de neutralité de piégeage allant de 12% à 17,7%. Ce bon résultat peut être attribué en premier lieu à la quantité significative d'hydrocarbures monoterpéniques et en particulier de d-limonène[241]. Il a été reporté que le d-limonène présente une activité antioxydante[242]. Le radical DPPH a la capacité de réagir avec des hydrocarbures insaturés (d-limonène) en retirant un atome H - des liaisons C-H avec une enthalpie de dissociation des liaisons suffisamment faible[243] , le processus impliquant la décoloration des radicaux libres en présence d'huile essentielle peut provenir de terpènes insaturés. Le d-limonène peut jouer un rôle crucial dans la neutralisation des radicaux libres[244] . Une étude rapportée par Farukh et al. (2014)[245] montre que l'activité de piégeage des radicaux des composants des huiles essentielles comme le d-limonène a un IC_{50} supérieur à celui du *Citrus reticulata* et inversement pour le Linalool (Tableau III-2).

Tableau III- 2 : Comparaison entre la concentration inhibitrice semi-maximale de l'huile essentielle et des principaux composés.

	d-limonène	Linalool	<i>Citrus Reticulata</i>
IC_{50} (mg/mL)	6.1586 ± 0.6311	1.9144 ± 0.0125	2.01 ± 0.0152

Cette comparaison précédente suggère que l'activité de piégeage des radicaux de notre agent provient de l'effet synergique des constituants de l'huile essentielle ; synergie avec d'autres composés chimiques, même avec les mineurs, tels que le γ -terpinène et le terpinène-4-ol (Tableau III-1) et suggère que ce phénomène pourrait jouer le rôle principal derrière cette activité.

Test FRAP

Le rôle joué par les citrus et les aliments végétaux, en termes d'avantages sur la santé de l'être humain et le stress oxydatif, provenant de leur activité antioxydante[246] nous a guidés pour mener également l'étude du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) (Figure III-20). En mesurant le pouvoir de l'huile essentielle en termes de réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} par transfert d'électrons. L'expression de la EC_{50} de l'huile essentielle révélée était de $4,71 \pm 0,43$ mg/mL.

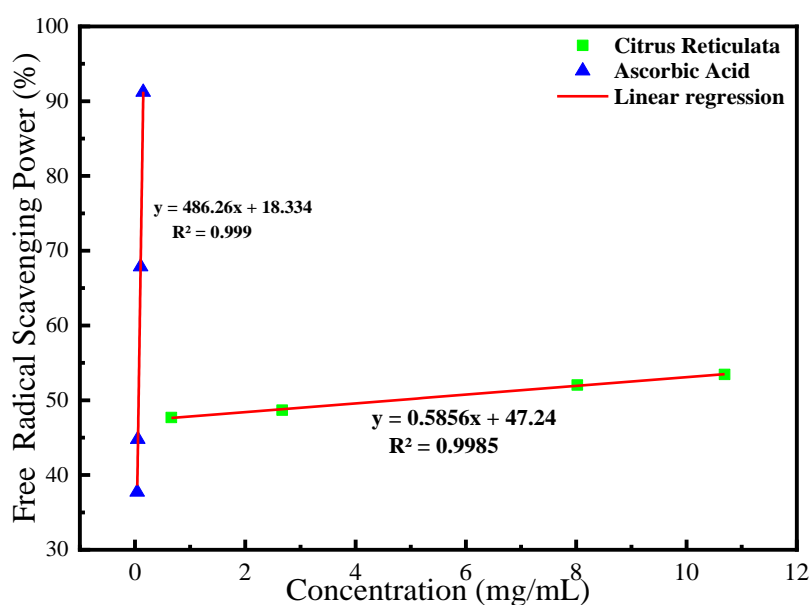


Figure III- 20: Pouvoir antioxydant réducteur ferrique de l'huile essentielle.

Nous avons augmenté la concentration d'huile essentielle de citrus jusqu'à la valeur, où une augmentation n'affecte plus la réduction des ions ferriques. Ces résultats semblent acceptables, puisque le test FRAP n'est pas aussi efficace que le DPPH et l'ABTS, mais il nous a donné une concentration efficace respectueuse de $4,71$ mg/mL. Les valeurs obtenues peuvent être très utiles pour les futurs chercheurs visant à étudier la variété de *Citrus reticulata*, car il existe peu d'examen concernant ce type de citrus.

Test ABTS

La réduction du risque d'être attaqué par le stress oxydatif et la prévention des dommages au corps humain, a été réalisée également par le test ABTS scavenging (Figure III-21). L'huile essentielle a été trouvée dans une gamme de 21,37 - 83,45% dans 0,66-8,62 mg/mL, avec une valeur IC₅₀ de 3,20 mg/mL.

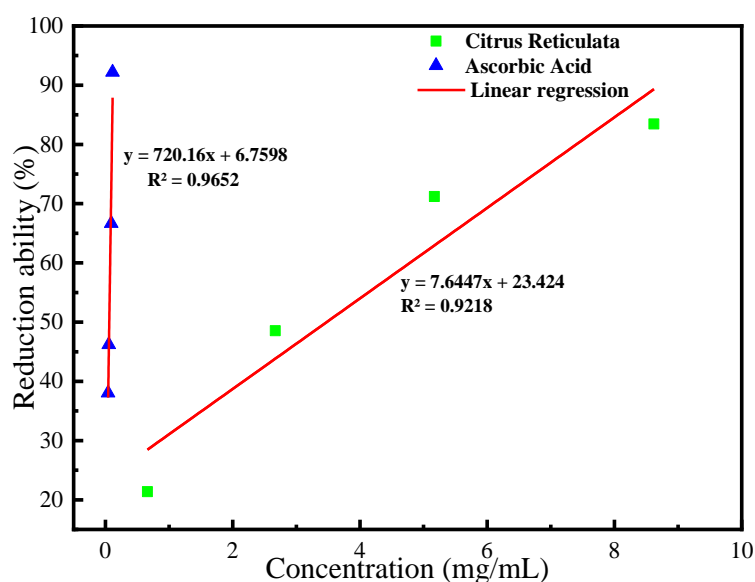


Figure III- 21: Test de piégeage ABTS de l'huile essentielle.

Une étude a été rapportée par Deng et al (2020)[247] utilisant le test ABTS, montre une valeur de 15.72 ± 0.32 mg/mL et un autre travail réalisé par Trabelsi et al. (2014)[248] ayant une valeur supérieure à 15.00 mg/mL. Alors que le *Citrus reticulata* conduit à une activité de piégeage significative de 3.47 ± 0.02 mg/mL. Le DPPH et l'ABTS montrent des corrélations en démontrant une puissance de piégeage respectueuse contre les radicaux libres. Comme le montre le tableau ci-dessous (Tableau III-3), la meilleure valeur de IC₅₀ a été obtenue par le DPPH, suivi par l'ABTS puis le FRAP.

Tableau III- 3 : IC₅₀ (mg/mL) des différents tests antioxydants testés.

Activité antioxydante	DPPH	FRAP	ABTS
IC ₅₀ (mg / mL)	2.01 ± 0.01	4.71 ± 0.43	3.47 ± 0.02

La moyenne de l'inhibition des dommages causés par les radicaux libres par les trois différentes méthodes utilisées au cours de ce travail sous-jacentes dans le tableau suivant (Tableau III- 4), montrent un intervalle apprécié pour le DPPH et l'ABTS.

Tableau III- 4: Pourcentage de piégeage des différents tests antioxydants testés.

Activité antioxydante	DPPH	FRAP	ABTS
Scavenging (%)	12.49 – 83.36	47.69 – 53.44	21.37 – 83.45

Les constituants des huiles essentielles ont réagi avec le cation radical ABTS préparé en ajoutant et en mélangeant du persulfate de sodium à l'ABTS. *Citrus reticulata* a exposé une capacité antioxydante appréciable en diminuant le grade du radical ABTS. Le mélange de substances phytochimiques présent dans l'huile essentielle exerce un effet synergique permettant de piéger et de neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif. Les agrumes domestiqués et les hybrides[249] peuvent être comparés à notre genre. Ils appartiennent tous à l'espèce des agrumes. Les résultats obtenus au cours de cette étude sont proches des publications précédentes rapportées sur la variété de citrus[250,251]. Par conséquent, les résultats obtenus peuvent être exploités dans un domaine varié en particulier le stress oxydatif. La raison derrière cette suggestion, est que l'huile essentielle n'a pas exposé de toxicité in vivo sur la santé et le bien-être. A ce titre, elle peut être utilisée avec une grande garantie[252,253]. Et pour confirmer davantage, jetez un coup d'œil à une étude rapportée par Monajemi et al.[254] sur la cytotoxicité de l'huile essentielle d'écorces d'agrumes.

III-4-2. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles sont bien connues pour leur activité antimicrobienne et elles sont des candidats potentiels pour le développement d'agents antimicrobiens à partir de sources alternatives[255,256]. En vertu de leur nature lipophile, ces huiles essentielles ont le potentiel d'interagir avec la membrane cellulaire des micro-organismes et de modifier sa perméabilité, entraînant finalement la mort du micro-organisme[257]. La portée antimicrobienne d'une huile volatile dépend invariablement de sa composition chimique. Dans la présente étude, le d-limonène s'est avéré être le principal composant chimique de l'huile d'agrumes, contribuant à son arôme vif et à sa capacité antibactérienne[258]. L'étude de la capacité antibactérienne contre les souches mentionnées a été effectuée par la méthode de dilution. Comme il a déjà été rapporté que les agrumes en général possèdent une activité antibactérienne, nous avons sauté l'étape de la diffusion sur disque, puisque nous avons rapporté des études le mentionnant[259,260]. Par ailleurs, les résultats obtenus dans notre expérience confirment le pouvoir de *Citrus reticulata* contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* (Tableau III-6).

Tableau III- 5: Activités antibactériennes de l'huile essentielle de *Citrus reticulata* contre 4 souches.

Bactéries	Concentration minimale inhibitrice (CMI) ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25
<i>Bacillus subtilis</i>	12.5
<i>Escherichia coli</i>	25
<i>Salmonella enterica</i>	25

Le citrus s'est avéré présenter un effet antibactérien contre la souche *Bacillus subtilis* plus fort que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*, comme cela était cohérent avec la littérature[259] . Les résultats obtenus sur l'espèce *Escherichia coli* sont similaires à une étude réalisée sur la variété *Citrus reticulata* qui se manifeste avec une CMI de $9 \mu\text{g/mL}$ [261] , une autre étude montrant une gamme de $0,25-0,40 \mu\text{g/mL}$ [262] . Ces résultats ont établi que l'huile essentielle des écorces de *Citrus reticulata* a le potentiel d'être compétitive avec les revêtements à base d'agents antimicrobiens et peut trouver une position dans les domaines d'application pertinents.

En général, les huiles essentielles extraites des agrumes sont considérées comme sans risque pour la consommation et l'utilisation par les organismes de réglementation, comme la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis, par conséquent, le citrus peut être utilisé comme ingrédient aromatique naturel ou comme additif alimentaire en raison de son arôme, en plus de ses activités antioxydantes et antibactériennes. Le limonène, le constituant le plus important de *Citrus reticulata*, s'est avéré être un agent gastroprotecteur efficace[263] ; par conséquent, l'huile de citron vert peut être prise en combinaison avec des substances anti-inflammatoires pour vaincre leur gastrotoxicité. L'huile essentielle de citron vert peut également être envisagée comme une alternative à la thérapie standard pour certaines affections courantes.

III-5. Exploration de l'hémisynthèse pour améliorer les propriétés des molécules isolées

Modification de L'héspéridine par hydrolyse puis fluoration

L'objectif principal de cette partie est d'apporter des modifications à la structure trouvée de l'héspéridine, en essayant d'éliminer la partie glycosidique (sucre) et après on changera les groupement hydroxyles en groupements fluores.

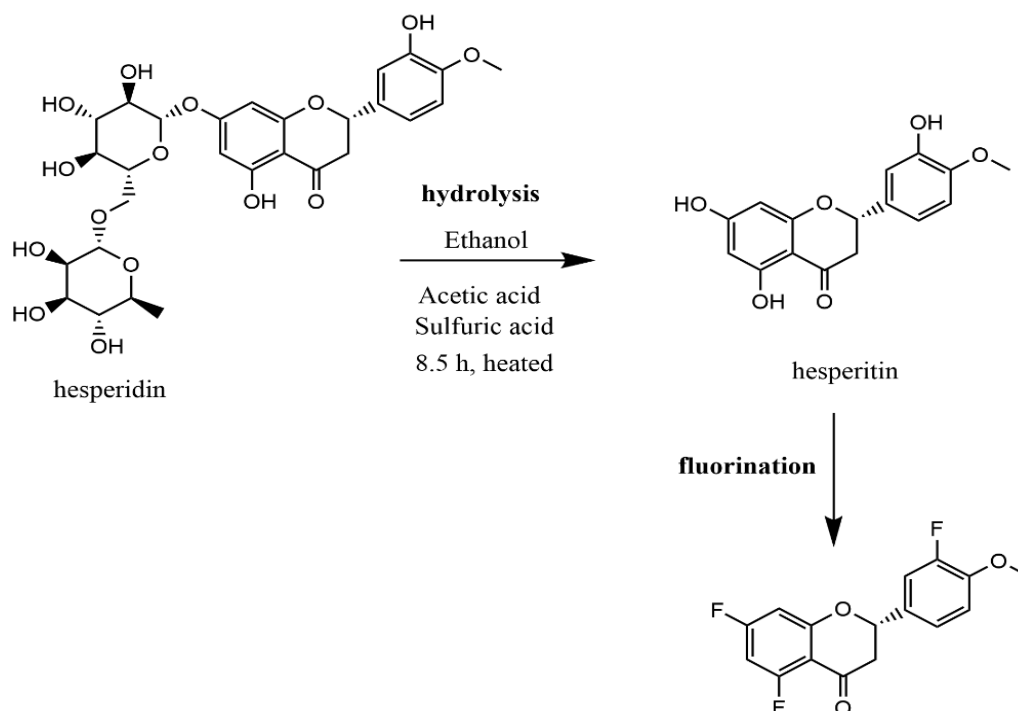


Figure III- 22: Schéma de la transformation visée

Vu l'intérêt de la chimie de fluor aujourd'hui dans le monde pharmaceutique, plusieurs tentatives ont été essayées afin d'insérer l'atome de fluor dans les structures des médicaments.

Dans une première partie, l'hydrolyse de l'hésperidine sera réalisée par l'addition de l'acide sulfurique (H_2SO_4) et l'acide acétique (CH_3COOH) en utilisant comme solvant l'éthanol.

Matière première
(Hésperidine)

Réactifs
($H_2SO_4 + CH_3COOH$)

Solvant
 C_2H_5OH ,
grade Ar

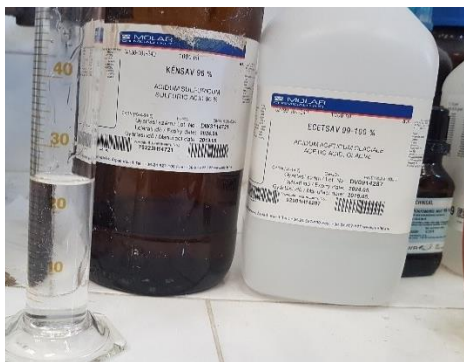


Figure III- 23: Matières utilisées pour la première étape

Une masse de 500 mg a été solubilisé dans 250 mL d'éthanol, et un volume de 25 mL d'acide acétique et 25 mL d'acide sulfurique ont été préparé apparemment. Le mélange des réactifs d'hydrolyse a été ajouté soigneusement.

Après une durée de 3h et avec une température de 60° dans un montage à reflux, la couleur de mélange a été changée, ce qui montre que la réaction a été effectuée. Un suivi par une plaque CCM a été en jeu jusqu'à le point où il y'a plus d'hespéridine.

Début de réaction

Après 3h
(Réaction en cours)Après 8.5h
(Fin de réaction)

Le workup de cette réaction a été effectué par neutralisation de l'acide en utilisant la soude (NaOH) tout en suivant avec pH la variation de la couleur.



Figure III- 24: Neutralisation de l'acide par l'addition de NaOH

Une extraction liquide-liquide en utilisant l'éthyle d'acétate comme solvant d'extraction de l'hesperetine de la phase aqueuse, suivi d'une concentration du produit final par évaporation de solvant nous a permis d'atteindre l'hesperetine.



Figure III- 25: Extraction et concentration de l'hesperetine

L'hesperetine sera soumise pour une tentative de fluoration en utilisant comme réactif, un agent de fluoration PhenoFluor Mix, le rôle de ce réactif est de transformer les groupements hydroxyle en groupements fluorés. On utilisera le toluène comme un solvant anhydrique et avec une pureté de 99.8%.

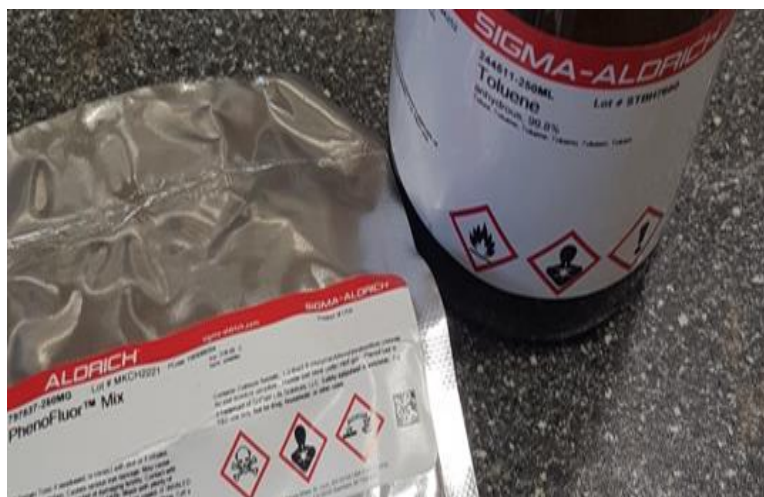


Figure III- 26: PhenoFluor Mix + Toluène 99.8%

La réaction a été essayée en premier temps dans un petit flacon de 5 mL. Une masse de 35 mg de l'hesperetine avec un excès de réactif (250 mg) et 2.5 mL de toluène. Après une durée de 2h la réaction a été complète.

Début de réaction



Fin de réaction (2h)



Un problème de solubilité a été généré, le DMSO a été utilisé pour la suite de ce travail. Dans le workup, nous avons soumis le produit à HPLC-préparative avec un système de 85% Eau et 15% Acétonitrile trouvé après une HPLC-PDA analytique.

F mix 1 - Property	
File Information	
File Name	F mix 1
Project Name	Ayoub Citrus
Date Modified	2022.05.26. 11:20:21
Date Modified By	Gabor
Chromatogram Information	
Acquisition Date	2022.05.26. 11:09:57
Acquisition User	Gabor
Acquisition Time	60.0min
Sample #	1
Volume	10.0
HPLC System Name	JASCO PDA
Additional Information	
Description	Kinetex 5 um XB-C18 100A 250x4.6mm
Sample Information	
Sample Name	
Type	UNK
Quantitation Factor	1.00000
Weight	0.00000
ISTD	
Description	
Channel Name	
Channel Information	
Sampling Interval	
Detection/Quant. Limits	
Used Method	
Acquisition Sequence	F mix 1 isoc 85 W-ACN 15 60 min
Control Method	ACN-water 15-85 60 min isocratic
Peak Method	
Peak ID Table	

Figure III- 27: Paramètre de purification déterminé par HPLC-PDA

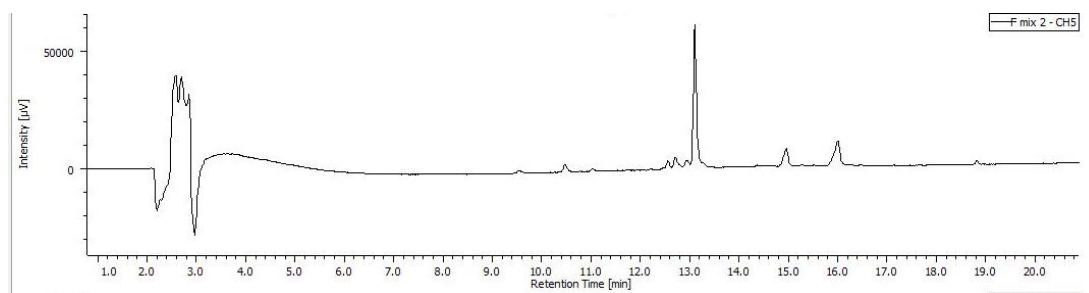


Figure III- 28: HPLC-PDA de la réaction de fluorination

A partir du chromatogramme ci-dessus, on constate bien qu'on peut récupérer un pic intense aux alentours de 13 min et 2 produits mineurs aux alentours de 15 et 16 min.

Après transfert de ce système à l'HPLC préparative, tous les produits viennent après 2 min !

Nous avons essayé plusieurs fois en changeant le système d'élution et aussi la méthode de purification et aucune méthode n'a été efficace !

Conclusions :

L'HE extraite des déchets d'écorces de citrus a démontré un potentiel prometteur en tant qu'agent antioxydant et antibactérien. Ces propriétés ont été confirmées par des analyses de DPPH, FRAP et ABTS pour l'activité antioxydante, ainsi que par des tests de dilution pour l'activité antibactérienne. Cependant, malgré des efforts pour améliorer ces capacités biologiques par le biais de la hémisynthèse, des problèmes de purification et des défis liés à l'agent de fluorination utilisé ont entravé la réussite de cette approche. Dans le chapitre suivant, qui est le dernier, nous présenterons en détail les résultats de l'activité anticorrosion et nous concluons avec des études théoriques de DFT et SMD pour mieux comprendre les interactions entre l'inhibiteur et la surface de l'acier lors de l'adsorption et la protection du matériau.

Chapitre IV :

Application dans le domaine

de la corrosion

Introduction :

Cette section se concentre sur l'utilisation des métabolites secondaires extraits du citrus, à savoir les HEs et les PMFs, en tant qu'agents anticorrosion pour protéger l'acier doux exposé à des environnements contenant de l'acide chlorhydrique (HCl). Les essais seront effectués en utilisant la méthode de la perte de poids, ainsi que des techniques électrochimiques telles que la SIE (Spectroscopie d'Impédance Electrochimique) et le PPD (Polarisation Potentiodynamique). L'examen de la surface sera réalisé à l'aide de la microscopie électronique à balayage (MEB-EDS). Enfin, pour l'aspect théorique de cette étude, nous adopterons une approche basée sur la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT).

IV-1. Mesure de la perte de poids

Dans ce premier contexte, la perte de poids va être examinée par l'immersion du spécimen sélectionné dans le milieu agressif de l'acide chlorhydrique. Ce milieu est considéré comme un agent d'endommagement, car il provoque des attaques et des piqûres à la surface de l'acier doux. Nous allons examiner l'effet du *Citrus reticulata* et combien il peut faire un traitement de surface par la seule mesure du poids avant l'immersion et après l'immersion. L'outil de la perte de poids, peut souligner l'impact inhibiteur instinctif des constituants volatils et non volatils de citrus au cours de cette expérience et fournir des résultats réfléchis de la procédure de corrosion avec la présence de *Citrus reticulata* et sans elle [264].

Tableau IV- 1: Données de perte de poids de l'acier doux dans une solution de HCl 1 M en absence et en présence d'HE et de PMF à différentes concentrations.

Conc HE (ppm)	W_{corr} (mg cm ⁻² h ⁻¹)	IE _{WL} (%)	Conc PMF (ppm)	W_{corr} (mg cm ⁻² h ⁻¹)	IE _{WL} (%)
000	1.4271	---	000	1.2090	---
900	0.1946	86.4	200	0.1142	90.5
600	0.2852	80.0	150	0.1809	85.0
300	0.4061	71.5	100	0.3529	70.8
100	0.7314	48.7	050	0.5443	54.9

D'après le tableau précédent, nous constatons qu'à la concentration de 900 ppm pour HE et 200 ppm pour PMF, la vitesse de corrosion devient très lente et l'efficacité atteint un bon niveau. Par conséquent, notre échantillon testé a joué un rôle important pour réduire le poids de l'acier doux et le sauver du phénomène de corrosion. Les HEs et les PMFs de *Citrus reticulata* semblent être des agents atténuant la corrosion intéressants

et plus préférables que la variété de citrus aurantium qui ne donne que 85% à 1 g/L[265]. La méthode d'inhibition par traitement de surface pour HE pourrait être due non seulement au composé principal, à savoir le d-Limonène, mais aussi à un effet coopératif avec les autres composants[266]. On remarque que par l'addition de *Citrus reticulata*, la vitesse de corrosion du MS a été significativement réduite, indiquant l'efficacité inhibitrice de l'HE et PMFs envers le MS dans le milieu acide étudié 1M HCl, cette action inhibitrice peut être attribuée à l'adsorption des composés organiques sur la surface du MS et ainsi fournir une bonne couverture de la surface du métal [267]. Les essais suivants seront effectués avec les techniques électrochimiques pour vérifier et confirmer les résultats des recherches. La méthode de polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique vont être testées en utilisant les matériaux requis et l'équipement nécessaire pour garantir les résultats obtenus.

IV-2. Essais électrochimiques

Dans ce contexte, nous allons essayer deux méthodes, la polarisation potentiodynamique et la spectroscopie d'impédance électrochimique, pour mesurer l'efficacité de l'inhibition de la corrosion. Cependant, avant de lancer le test électrochimique, nous devons d'abord exécuter l'OCP.

IV-2-1. Mesure de l'OCP

Avant de lancer le test électrochimique, l'échantillon d'acier doux a été immergé dans la solution pendant 1800 s afin d'établir un état stable (Figure IV-1). Nous remarquons que le potentiel du HCl 1 M vierge et de la concentration optimale se trouve entre -400 mV et -600 mV. Ils varient lentement pendant les premières secondes, puis ils deviennent stables. Par conséquent, les prochains résultats, qui seront obtenus par PDP et EIS, seront fiables et basés sur de bonnes conditions de mesure.

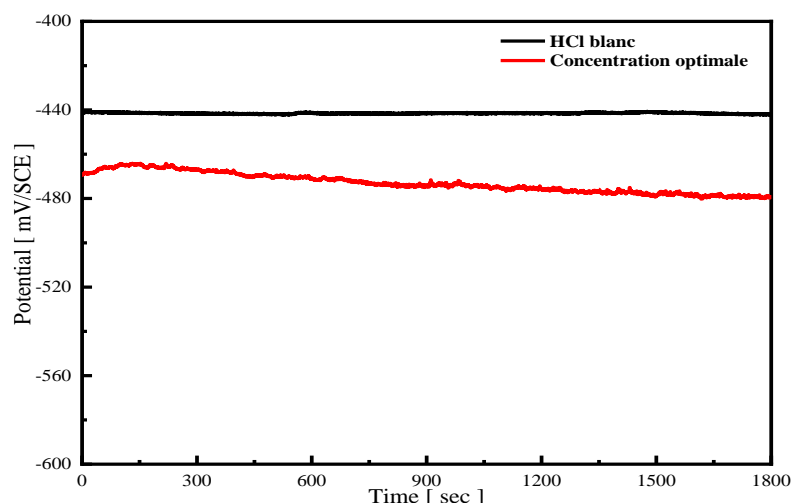


Figure IV- 1: OCP de l'électrode de travail en acier doux dans 1 M HCl à 298 K sans inhibiteur et avec la concentration optimale.

IV-2-2. Étude de polarisation potentiodynamique

Les outils de polarisation potentiodynamique, ont également été utilisés pour trouver une corrélation entre les résultats obtenus de l'efficacité. Nous avons étudié deux réactions cinétiques cruciales ; la cathodique et aussi l'anodique. Ces réactions ont eu lieu sur notre acier doux, l'électrode de travail. La solution contenant le milieu agressif étudié, l'acide chlorhydrique. Il était nécessaire de faire les deux états, avec la présence de HE ou PMF et sans, afin de faire une bonne étude. Les courbes de polarisation sont enregistrées dans la Figure IV-2 ci-dessous, et les paramètres sont racontés dans le Tableau IV-2 ; représentant, le potentiel de corrosion, abrégé en E_{corr} et la densité de courant de corrosion, abrégée en i_{corr} et les pentes de Tafel, abrégées en deux paramètres, β_c et β_a , ces paramètres électrochimiques ont été extraits par extrapolation à la fois, les courbes de Tafel anodiques et cathodiques. Les parties de Tafel cathodique et anodique ont été allégées. La dissolution du matériau a été contrôlée et suivie.

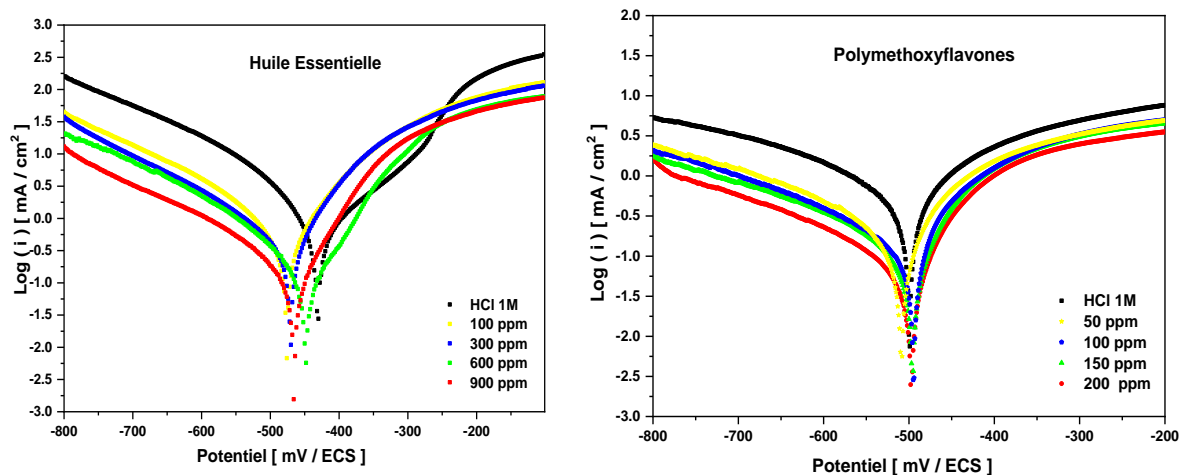


Figure IV- 2: Courbes PPD de HE et PMF en utilisant différentes concentrations.

Les processus de réaction cathodique et anodique, qui sont responsables respectivement du dégagement et de la dissolution de l'hydrogène, ont été contrôlés par l'ajout de l'inhibiteur *Citrus reticulata* [268]. L'étude rapportée par Bensouda et al [269] représente une valeur de 2.5 g/L d'HE pour obtenir 75.6% d'atténuation du phénomène de corrosion. De l'autre côté, HE de notre variété de *Citrus reticulata*, nous a donné une grande efficacité avec une faible concentration représentant seulement 900 ppm, ce qui est probablement 0,9 g/L. Et juste 200 ppm de PMFs pour atteindre 93.6%.

Tableau IV- 2: Paramètres de la méthode de polarisation potentiodynamique

<u>Huile essentielle</u>					
Conc. (ppm)	$-E_{corr}$ (mV/SCE)	i_{corr} ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	$-\beta_c$ (mV dec^{-1})	β_a (mV dec^{-1})	IE _{PPD} %
000	430.3	724	194	133	---
900	446.5	70	81	61	90.3
600	469.2	133	65	41	81.6
300	477.6	163	54	51	77.5
100	484.2	387	107	81	46.5
<u>Polyméthoxyflavones</u>					
000	502.4	717.0	292.0	202.8	---
200	496.4	45.6	137.2	57.9	93.6
150	495.9	98.9	186.9	79.9	86.3
100	496.4	161.7	252.8	102.5	77.4
050	507.8	291.2	314.5	170.0	59.4

La densité de courant de corrosion diminue avec l'augmentation de la concentration de *Citrus reticulata*. Le blanc représente une valeur de $724 \mu\text{A cm}^{-2}$, alors qu'après l'ajout de 900 ppm d'HE, la valeur descend à $70 \mu\text{A cm}^{-2}$. Similairement au PMFs, le blanc représente une valeur de $717 \mu\text{A cm}^{-2}$, alors qu'après l'ajout de 200 ppm de PMFs, la valeur descend à $45 \mu\text{A cm}^{-2}$. La diminution de la densité de courant est proportionnelle à la diminution de la vitesse de corrosion de l'acier doux. La variation de E_{corr} en fonction de la concentration de *Citrus reticulata* n'est pas significative et inférieure à 54 mV/ECS, ce qui indique que les HEs de *Citrus reticulata* agissent comme un type mixte et que le mécanisme de ce processus n'a pas été modifié [270]. En outre, la densité de courant a été réduite pour les deux branches de Tafel cathodiques et anodiques dans la solution inhibée, ce qui indique que l'effet inhibiteur de *Citrus reticulata* sur la surface de l'acier s'est manifesté par le blocage des sites actifs sans modifier le mécanisme de réaction anodique et cathodique, et en formant ainsi un film protecteur [271,272].

IV-2-3. Mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique

La figure IV-3 ci-dessous, représente les résultats de la SIE dans différentes concentrations de *Citrus reticulata*, et le tableau IV-3 ci-dessous représente les paramètres de constatation. Les mesures ont été guidées soigneusement dans des conditions de paramètres potentiostatiques avec l'intervention de plusieurs concentrations d'HE et de PMFs et en l'absence de cet inhibiteur. Nous avons exploité les deux types de tracés, Nyquist et Bode, afin de fournir plus d'informations sur le test effectué par l'outil de spectroscopie d'impédance électrochimique. Dans les diagrammes de Bode, décrits dans la figure ci-dessous, la magnitude de la limite de fréquence la plus élevée correspond à la résistance de la solution R_s ($\Omega \text{ cm}^2$), tandis que la limite de fréquence minimale correspond à $(R_{\text{ct}}+R_s)$. La fréquence inférieure décrit le processus de transfert de charge (oxydation du métal et réduction des ions hydrogène)[273]. Les paramètres nécessaires de la corrosion concernant la manière d'impédance sont résumés dans le tableau IV-3 ci-dessous.

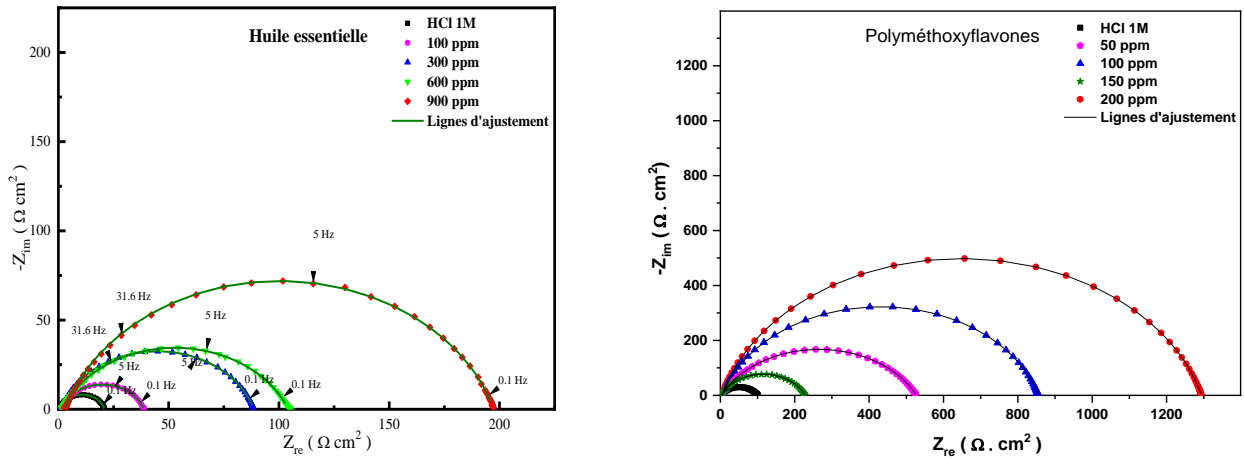


Figure IV- 3: Courbes de Nyquist de MS avec et sans la présence de différentes concentrations de Citrus reticulata.

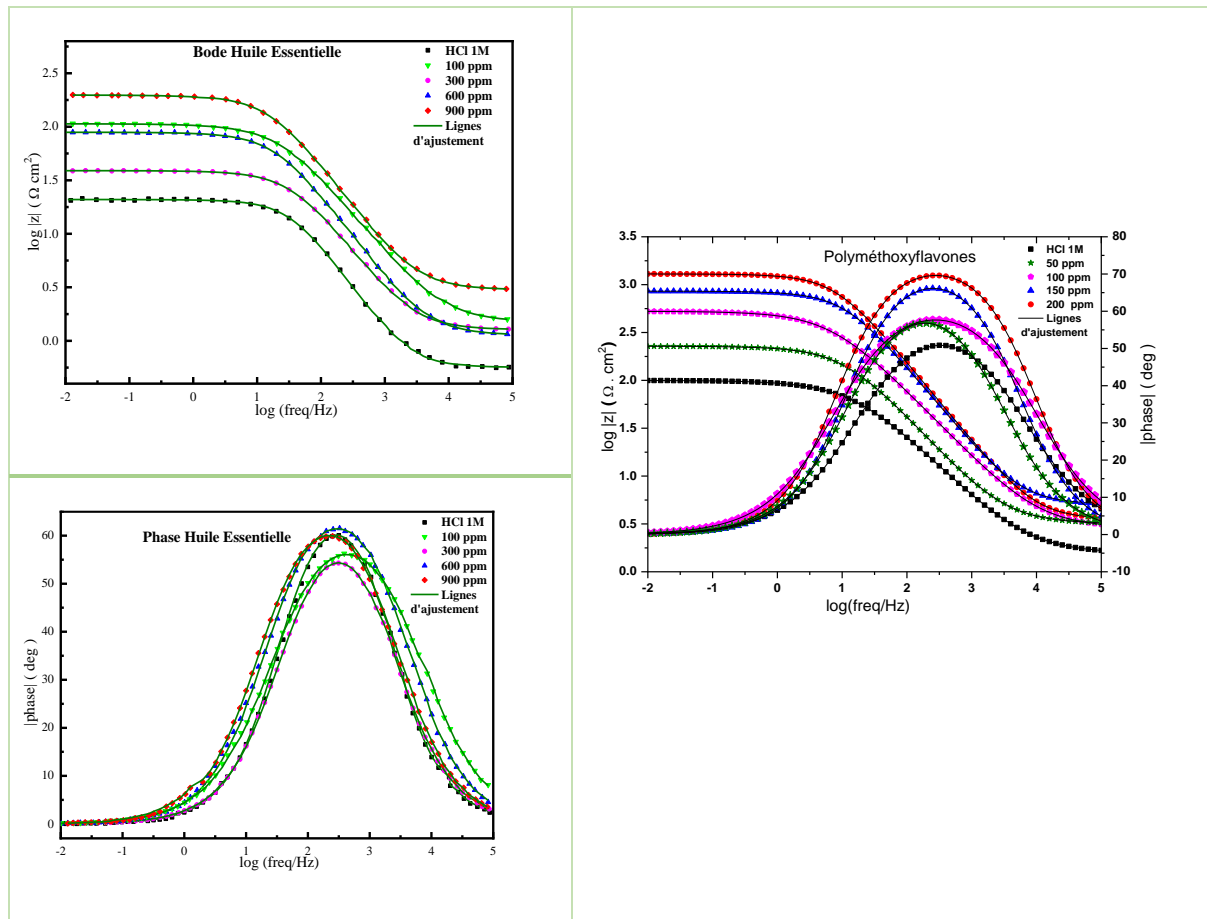


Figure IV- 4: Courbes de Bode et phase de MS avec et sans la présence de différentes concentrations de citrus reticulata.

Dans toutes les expériences libérées concernant chaque concentration, nous observons une seule boucle capacitive déprimée. Par conséquent, il n'y a qu'un seul phénomène obtenu. Et ce phénomène, qui est la forme déprimée des tracés, a probablement une relation avec la présence d'inhomogénéité ou due à la micro-rugosité de la surface de l'acier doux produite pendant le processus de corrosion[274]. Nous

pourrions interpréter profondément les boucles capacitives obtenues avec deux processus principaux : le transfert de charge et la constitution de la double couche. En effet, en ajoutant la quantité de citruses à l'acide chlorhydrique, la concentration d'inhibiteur augmente, les tracés de Nyquist deviennent plus grands par rapport à l'acide chlorhydrique sans inhibiteur. Le circuit équivalent correspondant probablement à notre système est montré dans la Figure IV- 5, il est composé de la résistance de solution R_s en série avec un petit circuit composé de la résistance de polarisation R_p en parallèle avec un CPE constant (élément de phase constant). La résistance de polarisation R_p est la somme de la résistance de transfert de charge (R_{ct}) et de la résistance du film d'inhibiteur (R_f) ($R_p = R_{ct} + R_f$) [275]. La constante CPE est un paramètre d'ajustement, qui tient compte de la nature aplatie des courbes de Nyquist et l'impédance correspondante à la CPE est calculée à partir de cette équation[276]:

$$Z_{CPE} = Q^{-1} (i \times \omega)^{-n} \quad (\text{Eq. IV-1})$$

Où (Q, ω, i, n) sont la constante CPE, la fréquence angulaire avec $\omega = 2\pi f$, le nombre imaginaire avec $i^2 = -1$ et n est un exposant. Les valeurs de l'indice n sont significatives et peuvent servir d'indicateur des composants qui définissent le circuit équivalent. Les valeurs possibles de n sont 1, 0,5, 0 ou 1, correspondant respectivement à une capacité, une impédance de Warburg, une résistance ou une inductance [277]. Un autre paramètre important dans la caractérisation de la double couche par la technique EIS est la capacité C_{dl} , qui peut être déterminée par l'équation déduite suivante[278]:

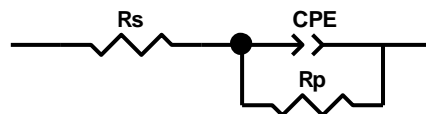


Figure IV- 6: Modèle de circuit équivalent essayé au cours de cette étude pour s'adapter à l'interface métal/solution

$$C_{dl} = Q^{1/n} \left(\frac{R_s R_p}{R_s + R_p} \right)^{(1-n)/n} \quad (\text{Eq. IV-2})$$

Tableau IV- 3 : Paramètres de la méthode de spectroscopie d'impédance électrochimique.

<u>Huile Essentielle</u>							
Conc. (ppm)	R_s ($\Omega \text{ cm}^2$)	R_p ($\Omega \text{ cm}^2$)	Q ($\mu\text{F s}^{n-1} \text{ cm}^2$)	n	C_{dl} ($\mu\text{F cm}^{-2}$)	χ^2	IE_z %
000	0.56±0.03	20.3±0.4	455.7±3.2	0.8668±0.0050	127.3	0.0084	---
900	2.99±0.01	194.3±1.8	118.6±1.2	0.8122±0.0040	18.8	0.0043	89.6
600	1.48±0.02	102.9±1.3	209.8±1.8	0.8052±0.0030	29.6	0.0041	80.3
300	1.26±0.01	87.4±0.8	219.8±2.0	0.8145±0.0080	33.9	0.0082	76.8
100	1.13±0.03	37.4±0.3	314.5±2.8	0.8130±0.0050	50.3	0.0062	45.8

<u>Polyméthoxyflavones</u>							
0	1.459	101.6	437.65	0.7803	123.9	0.0087	---
50	2.402	223.8	355.02	0.7633	89.43	0.0046	54.60
100	3.206	546.3	289.17	0.7702	75.8	0.0089	81.40
150	3.602	869.6	168.33	0.8236	66.32	0.0043	88.31
200	5.095	1290.0	135.93	0.8367	48.65	0.0078	92.12

De plus, la précision des mesures SIE a été prouvée en utilisant l'ajustement des résultats expérimentaux et des lignes d'ajustement comme le montre le tableau IV-3. Ceci a été confirmé par les faibles valeurs du chi carré (χ^2), ce qui suggère que le circuit qui a été présenté pourrait être validé. En général, plus la valeur du χ^2 est petite, plus les données sont en accord avec les données expérimentales[279]. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de *Citrus reticulata* a été adsorbée à la surface de l'acier et que les sites actifs qui sont probablement responsables de la dissolution du métal ont été bloqués. L'augmentation de la valeur de R_p reflète que l'inhibiteur a une bonne performance inhibitrice, ce qui pourrait faire référence à la grande surface qui a été couverte et à la protection efficace de l'échantillon d'acier contre la dissolution.

Comme le paramètre R_p augmente, la valeur du paramètre C_{dl} diminue (Tableau IV-3), et cette évolution est inversement proportionnelle à la concentration de l'inhibiteur, et a atteint la valeur de $18.8 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ à la concentration de 900 ppm pour l'huile essentielle. Ceci pourrait faire référence à la diminution de la constante diélectrique qui a été causée par les molécules d'eau pré-adsorbées qui ont été remplacées[280]. La diminution de la capacité de la double couche C_{dl} est accompagnée

d'une diminution de la constante diélectrique Q . Cela indique que le processus de corrosion n'a pas changé et qu'un film protecteur d'inhibiteur peut être formé à la surface de matériau par un phénomène d'adsorption [281].

IV-3. Effet de la température

La température joue un rôle important dans la modification de l'interaction qui s'est produite entre la surface du matériau (acier doux) et l'environnement agressif choisi (acide chlorhydrique). Le changement de température peut entraîner un changement radical de la force de l'inhibiteur. Pour cette raison, nous avons décidé d'obtenir plus d'informations de notre étude à la fois dans les paramètres cinétiques et les paramètres thermodynamiques standard du processus de corrosion de MS dans la solution d'essai. Nous avons évalué l'effet de la température à travers la procédure de polarisation potentiodynamique basée sur les tracés des courbes de Tafel à différentes températures (Figure IV-7), à savoir 298 K, 308 K, 318 K et 328 K avec la concentration optimale d'inhibiteur.

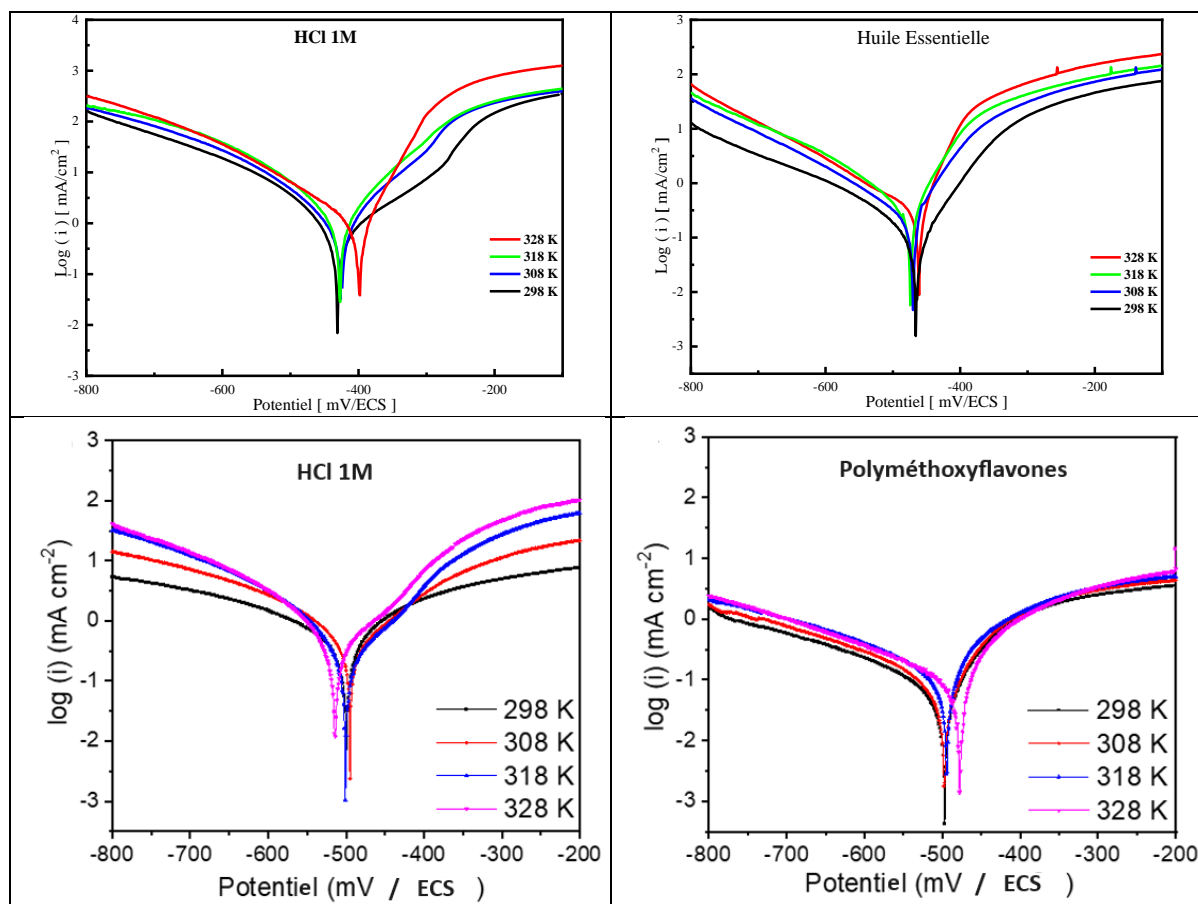


Figure IV- 7: Tracés de polarisation de l'acier doux dans 1 M HCl avec et sans *citrus reticulata* à différentes températures.

En augmentant la température de 298 à 328 K, la densité de courant s'adapte

proportionnellement à la température et augmente également. Par conséquent, l'efficacité de l'inhibiteur est diminuée. L'effet de la température affaiblit les liens forts établis entre l'inhibiteur *Citrus reticulata* et la surface de l'acier doux, alors le film protecteur devient plus mou et plus facile à briser[282]. L'efficacité de l'inhibition diminue avec l'augmentation de la température, cela peut être dû à l'augmentation de la vitesse du processus de dissolution de l'acier doux et également à une désorption partielle de l'inhibiteur sélectionné de la surface du métal avec la température[283]. Le tableau IV-4 résume les principaux paramètres requis à partir des courbes de la figure IV-7.

Tableau IV- 4: Paramètres de polarisation pour l'acier doux dans 1 M HCl avec *Citrus reticulata* à différentes températures.

<u>Huile Essentielle</u>						
T (K)	Milieu	$-E_{corr}$ (mV/SCE)	i_{corr} ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	$-\beta_c$ (mV dec ⁻¹)	β_a (mV dec ⁻¹)	IE_{PDP} %
298	HE	446.5	70	81.0	61.1	90.3
	Blanc	430.3	724	194.1	132.9	---
308	HE	469.9	153	94.1	38.0	78.9
	Blanc	424.8	1048	257.8	144.7	---
318	HE	472.8	251	102.1	46.9	65.3
	Blanc	428.3	1438	298.5	181.3	---
328	HE	62.0	401	157.0	55.5	44.6
	Blanc	499.9	3041	234.8	197.0	---

<u>Polyméthoxyflavones</u>						
298	PMFs	496.4	45.6	137.2	57.9	93.63
	Blanc	502.5	717.1	292.0	202.8	---
308	PMFs	500.1	126.4	258.5	102.9	82.4
	Blanc	494.6	819.5	169.5	135.0	---
318	PMFs	495.7	177.7	274.7	128.5	75.2
	Blanc	499.9	932.1	176.3	133.3	---
328	PMFs	477.7	303.2	371.7	177.9	57.7
	Blanc	513.4	1006.1	162.5	122.4	---

Nous remarquons qu'en augmentant le niveau de température de 298 K à 328 K, le potentiel d'efficacité de l'inhibiteur devient plus faible et la double couche établie devient également très facile à détruire. Les paramètres d'activation cinétique, seront calculés après les tracés d'Arrhenius de MS [284].

Isotherme d'adsorption et paramètres thermodynamiques

Les paramètres d'activation pour la procédure de corrosion seront extraits du tracé de type Arrhenius selon l'équation suivante (11) :

$$i_{corr} = k \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (\text{Eq. IV-3})$$

Avec E_a représentant l'énergie de corrosion d'activation apparente et R représentant la constante universelle des gaz puis k représentant la constante pré-exponentielle d'Arrhenius. Plusieurs modèles d'adsorption seront essayés afin de déterminer celui qui résonne et s'adapte à notre étude. Les tracés d'Arrhenius concernant la densité de corrosion de l'échantillon d'acier doux sélectionné pour l'inhibiteur essayé de l'huile essentielle de *Citrus reticulata* sont représentés dans la Figure IV-8 et la Figure IV-9 ci-dessous.

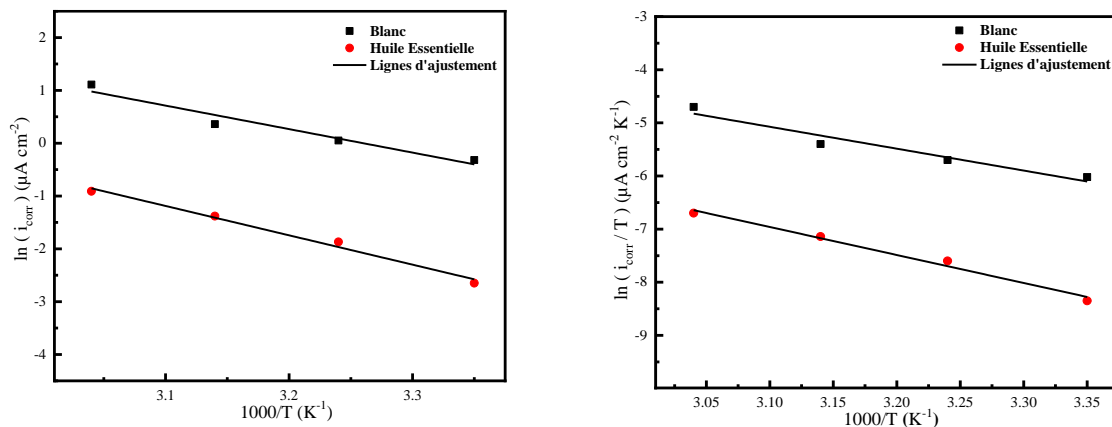


Figure IV- 8: Graphiques d'Arrhenius de MS dans 1 M HCl avec et sans HE

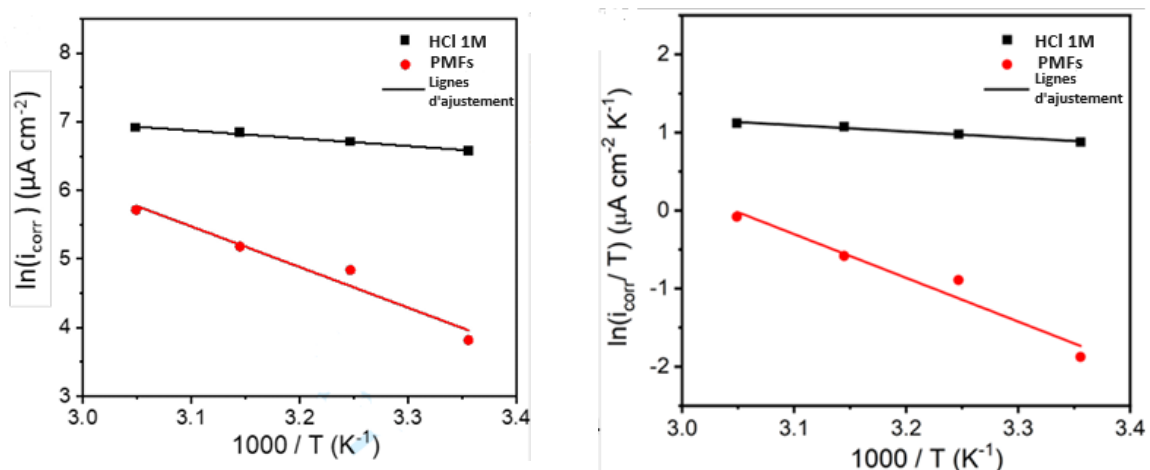


Figure IV- 9: Transition des tracés d'Arrhenius de MS dans 1M HCl avec et sans PMFs

Le calcul des valeurs nécessaires, telles que l'énergie d'activation du processus de corrosion pour notre matériau d'acier doux dans 1M d'acide chlorhydrique, avec l'intervention de *Citrus reticulata* à la concentration hautement efficace de 900 ppm et sans citrus, a été déterminé selon les informations extraites de l'ajustement linéaire des résultats obtenus, telles que la pente et l'intercept. Les valeurs trouvées sont résumées dans le tableau IV-5 ci-dessous. Nous devons déterminer les autres paramètres ΔH_a et ΔS_a , et pour cela nous devons tracer les $\ln(i_{corr}/T) = f(1000/T)$ (Figure IV- 8 et Figure IV- 9).

L'équation d'Arrhenius peut être donnée avec une alternative pour déterminer les autres paramètres d'activation :

$$i_{corr} = \frac{RT}{Nh} \exp\left(\frac{\Delta S_a}{R}\right) \exp\left(\frac{-\Delta H_a}{RT}\right) \quad (\text{Eq. IV-4})$$

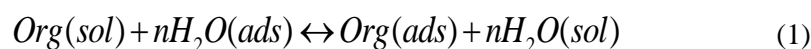
Avec i_{corr} représentant la vitesse de corrosion, A représentant le facteur pré-exponentiel, et h est connu comme la constante de Planck, N représentant le nombre d'Avogadro, R représentant la constante du gaz universel, et les deux derniers paramètres ΔH_a et ΔS_a décrivant l'enthalpie et l'entropie d'activation respectivement. Il a été soutenu dans la littérature, que si l'efficacité de l'inhibition diminue avec l'augmentation du paramètre de température et la valeur du pré-exponentiel augmente dans l'existence de l'inhibiteur quand il est lié à la solution d'examen, cela peut être décrit par le phénomène d'adsorption physique [285].

Tableau IV- 5: Les valeurs des paramètres d'activation pour MS dans 1 M HCl avec et sans présence de 900 ppm de citrus *reticulata*

Milieu	E_a (kJ/mol)	ΔH_a (kJ/mol)	$-\Delta S_a$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)
Blanc	36.97	34.23	133.45
Huile Essentielle	46.12	43.71	119.66
Blanc	9.31	6.73	167.61
PMFs	49.14	46.56	55.70

Le paramètre essentiel de l'énergie d'activation de la procédure de corrosion passe d'une valeur de 36,97 à une valeur élevée de 46,12 kJ mol⁻¹. Nous pouvons comprendre de la modification précédente, que cette augmentation des deux paramètres, l'énergie d'activation et l'élément de la densité de courant pourrait être interprétée par le

phénomène de dissolution du matériau de l'acier doux dans le milieu agressif de l'acide chlorhydrique. En outre, cette dissolution de notre spécimen dans 1 M HCl en présence d'inhibiteur est plus faible lorsque l'inhibiteur *Citrus reticulata* est présent dans la solution, en revanche, elle devient catastrophique avec l'existence du seul milieu agressif de HCl. Il a été décrit que, si l'énergie d'activation est plus élevée lorsque l'inhibiteur est inséré dans la solution contenant l'acier doux, cela signifie que nous sommes face à un phénomène de physisorption. Il est nécessaire d'admettre que le mécanisme d'inhibition à la surface de l'acier se produit par l'adsorption[286]. Ce phénomène est la première étape de ce processus. Il se produit entre la solution contenant à la fois, le milieu agressif qui est le HCl 1 M et l'huile essentielle de *Citrus reticulata* qui est l'agent réducteur. Et le métal, qui est l'acier doux dans notre cas d'étude. Le phénomène d'adsorption dépend de la composition de l'échantillon ; les molécules constituant le mélange d'huile essentielle de *Citrus reticulata*, ensuite, la température qui est également prise en considération, et enfin le potentiel électrochimique à l'interface entre l'acier doux et la solution. Notre échantillon est constitué de molécules organiques et notamment, avec une part importante de d-limonène représentant 82%. Par conséquent, nous allons le considérer comme l'inhibiteur pur étudié et le responsable. En effet, l'eau représentée par deux atomes d'hydrogène et un d'oxygène, a pu être adsorbée à l'interface entre l'acier doux et la solution étudiée. Nous pouvons considérer que ce phénomène d'adsorption du d-limonène de la solution aqueuse peut être estimé et interprété comme un processus de quasi-substitution entre le d-limonène dans la solution aqueuse $[Org(sol)]$ et $[H_2O(ads)]$ qui est des molécules d'eau à la surface de l'électrode.[287]



Avec le coefficient n, représentant le rapport de taille, qui est le nombre de molécules H₂O remplacées par le d-limonène. D'autres données et informations concernant l'interaction entre notre inhibiteur écologique et l'échantillon peuvent être fournies et obtenues par l'isotherme d'adsorption. L'obtention de l'isotherme, nécessite l'existence d'une relation linéaire entre le paramètre θ , qui représente le degré de couverture de la surface et C, qui correspond à la concentration de l'inhibiteur. Les isothermes de Langmuir, Frumkin et Temkin ont été essayés en ajustant les valeurs de θ . Et finalement, l'ajustement le plus précis a été celui de l'isotherme de Langmuir. En fait,

ce modèle a été étudié pour un grand nombre d'inhibiteurs [288,289]. Dans le but de fournir des informations précieuses sur le phénomène d'adsorption des différents constituants de l'huile essentielle de *citrus reticulata*. Nous avons utilisé les isothermes du processus d'adsorption. Le modèle de Langmuir est très populaire et largement connu comme étant le plus approprié. Il peut être représenté par :

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{1}{K_{ads}} + C_{inh} \quad (\text{Eq. IV-5})$$

Où la concentration de l'échantillon essayé est abrégée par C_{inh} , l'équilibre du processus d'adsorption est abrégé par la constante K_{ads} .

Le modèle précédent d'isotherme d'adsorption semble d'un grand intérêt, et il peut fournir des informations plus fondamentales et précieuses sur le type d'interaction entre le spécimen sélectionné de la surface d'acier doux (adsorbant) et les constituants actifs de l'huile essentielle (adsorbat). De plus, de multiples paramètres et facteurs sont pris en compte : la nature du métal étudié, le type de molécules inhibitrices (structure électronique), la température de l'environnement, la concentration sélectionnée d'huile essentielle de *Citrus reticulata*, et d'autres paramètres...C et θ ont déjà été mentionnés précédemment, K représentant la constante de la désorption et de l'adsorption. La figure IV-9 ci-dessus, démontre la concentration de l'inhibiteur sur le degré de couverture de la surface en fonction de la concentration de l'inhibiteur (C_{inh} / θ) = f(C_{inh}). La forme linéaire a été trouvée pour le composé principal, le d-limonène. La fiabilité de l'approche utilisée a été approuvée par une valeur de R^2 représentée dans le tableau IV-6 ci-dessous, qui indique une corrélation forte et valide.

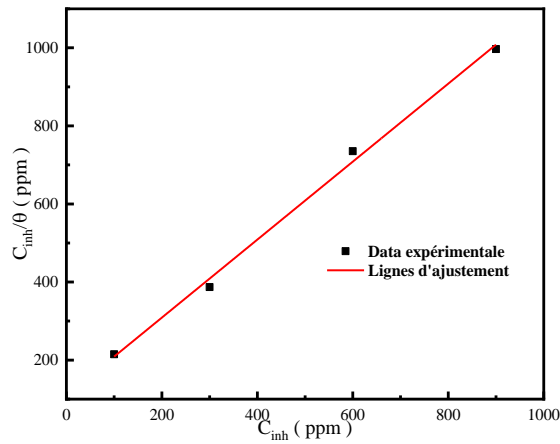


Figure IV- 10 : Graphiques d'adsorption de Langmuir de l'HE sur la surface de MS dans une solution de HCl 1 M à 298 K.

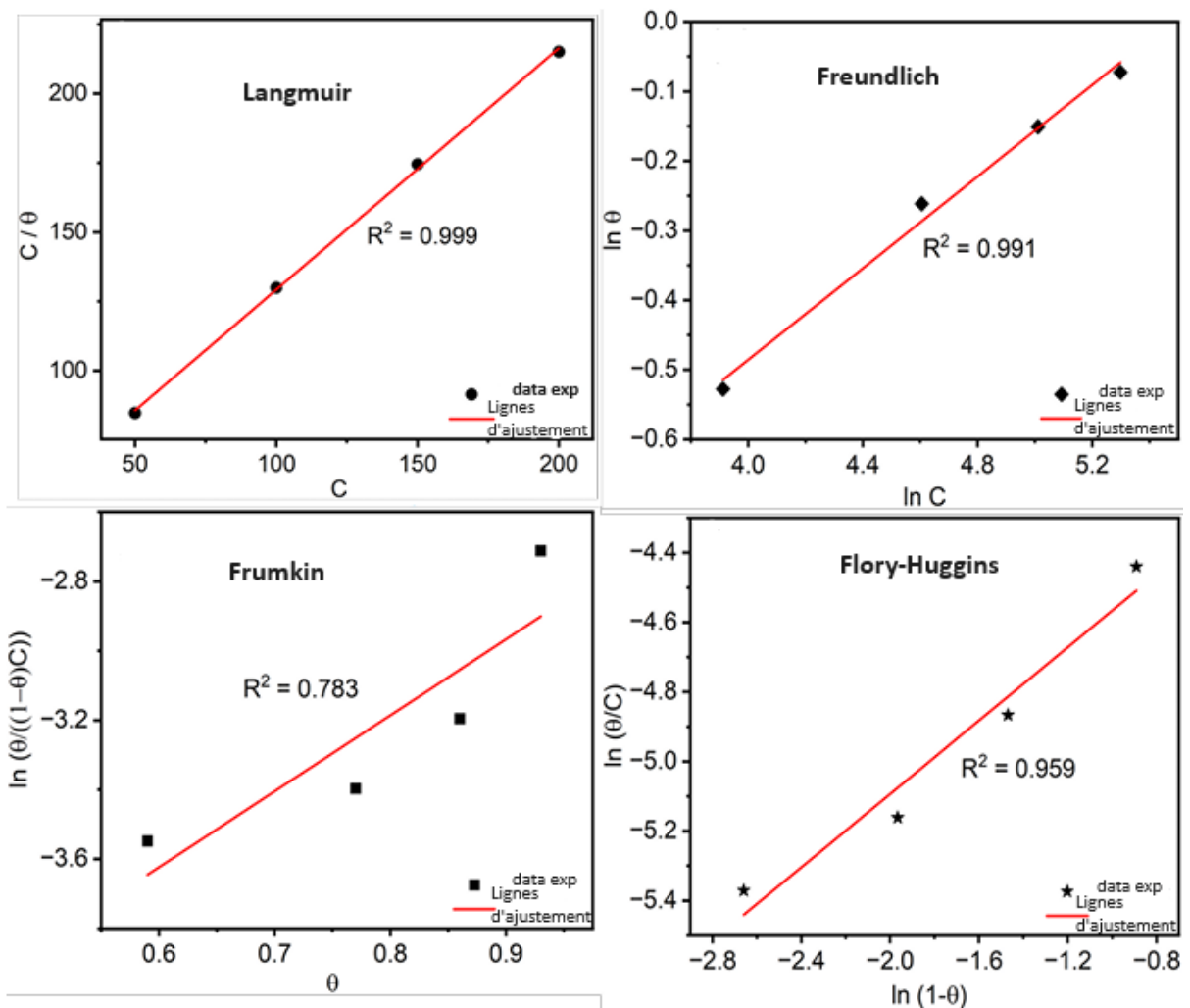


Figure IV- 11: Graphiques d'adsorption de PMFs sur la surface de MS dans une solution de HCl 1 M à 298 K.

Tableau IV- 6: Paramètres thermodynamiques pour la corrosion de l'acier doux/1 M HCl.

	Pente	K_{ads} (L/g)	R^2
<i>Citrus reticulata</i>	0.9986	9.1717	0.9945

Les valeurs des paramètres thermodynamiques concernant le modèle de Langmuir

de HE suivi sont présentées dans le tableau IV-6 ci-dessus. Nous constatons une adsorption spontanée des composés des huiles essentielles et en particulier du d-limonène sur la surface de notre échantillon, l'acier doux. Cette adsorption est accompagnée d'une interaction intéressante et remarquable qui s'est produite entre les molécules responsables de l'atténuation du phénomène de corrosion et la surface de notre spécimen. De plus, la constante de K_{ads} nous a permis de calculer l'énergie libre d'adsorption ΔG_{ads}^0 selon cette équation thermodynamique :

$$\Delta G_{ads}^0 = -RT \ln(C_{H_2O} \times K_{ads}) \quad (\text{Eq. IV-6})$$

Où C_{H_2O} , T et R sont respectivement la concentration d'eau pure dans la solution ($C_{H_2O} = 1000 \text{ g/L}$), la température (K) et la constante universelle des gaz. Cependant, le poids moléculaire de l'huile essentielle de *Citrus reticulata* n'est pas reconnu, et donc sa détermination n'est pas permise, comme cela a été souligné, dans des travaux antérieurs similaires [290–292].

IV-4. Caractérisation et étude de surface

Dans notre étude, nous avons évalué une variété de techniques, pour donner des informations multiples et des résultats fiables sur l'attaque corrosive, causée par le milieu agressif. Nous avons l'intention d'utiliser l'analyse morphologique et chimique des surfaces dans cette dernière partie.

IV-4-1. Spectroscopie ultra-violet (UV) :

Nous avons soumis la technique UV-Vis en premier lieu, pour analyser les traitements de surface par l'huile essentielle de *Citrus reticulata* comme inhibiteur. Dans notre cas, les bandes de lumière UV obtenues nous permettent de reconnaître une différence d'absorbance entre l'intervention de l'acier doux dans l'inhibiteur et sans l'intervention de l'acier doux avec l'inhibiteur. Dans la Figure IV-13 ci-dessous, la longueur de la bande d'absorbance de l'inhibiteur avec l'immersion de l'acier doux est inférieure en comparaison avec la longueur de la bande d'absorbance de l'immersion de l'acier doux dans le *Citrus reticulata*. La différence d'absorbance est due à l'existence d'une interaction entre l'inhibiteur et la surface de l'échantillon sélectionné. Et, comme il a été soutenu dans la littérature, lorsque la valeur du pic d'absorbance le plus élevé et la

position du sommet se modifient dans le spectre UV-visible, cela est signifié et décrit par la production d'un composé complexe entre les deux éléments dans la solution [293,294].

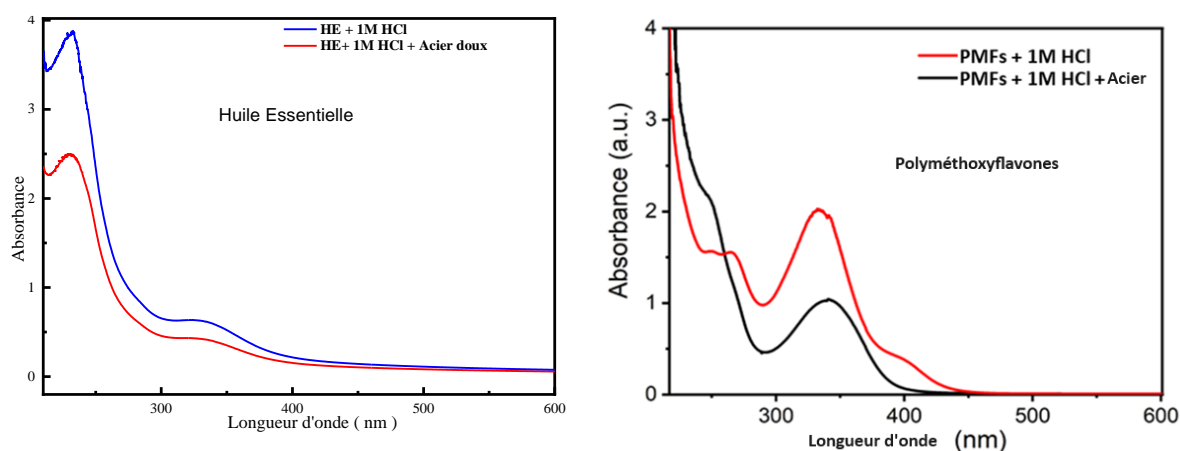
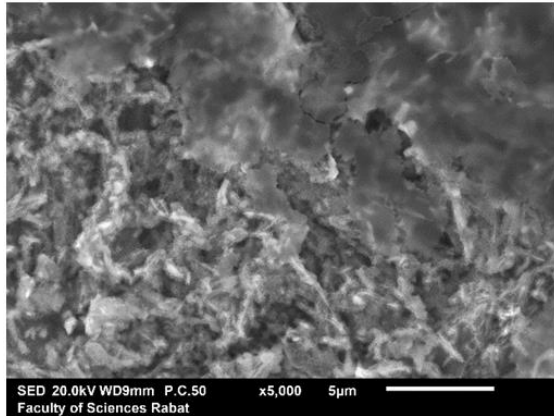


Figure IV- 12: Spectres UV avec et sans l'intervention de *citrus reticulata* dans une solution contenant de l'acier doux.

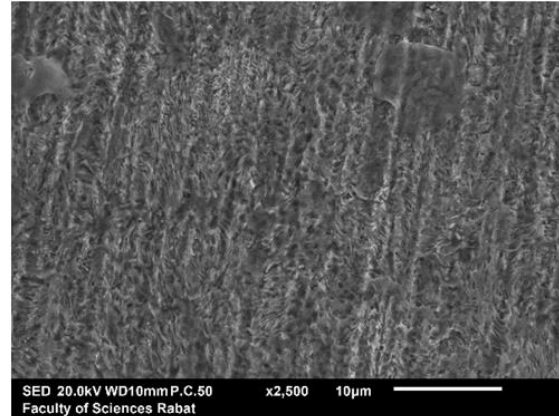
IV-4-2. Microscopie Electronique à Balayage (MEB/EDS)

L'analyse de la morphologie de la surface des métaux par la technique du microscope électronique à balayage est considérée comme étant devenue un outil nécessaire pour étudier la morphologie de l'acier doux corrodé et également des métaux non corrodés[295]. Dans ce contexte, le MEB a été utilisé avec l'aide du détecteur EDS, afin de donner à la fois des images micrographiques et des informations sur les éléments de la surface. Nous avons étudié la morphologie afin d'apporter des informations utiles et précises. Des raids agressifs seront décrits sur l'ébauche, l'échantillon d'acier doux après 24 heures d'immersion comme il est recommandé dans une solution de HCl 1 M non inhibée (Figure IV-14). L'image MEB obtenue de la surface de l'acier doux sans l'insertion d'inhibiteur (Figure IV-14a), montre des produits de corrosion maximaux et énormes décrivant une surface rugueuse et une corrosion uniforme caractéristique de l'acier doux dans l'acide chlorhydrique que l'essai suivant avec l'insertion de l'inhibiteur (Figure IV-14b). L'atténuation et la réduction des produits de corrosion obtenues avec l'inhibiteur dépeignent une surface lisse et douce avec moins de produits de corrosion. Par conséquent, cela dépeint et représente une bonne action inhibitrice et une propriété anticorrosion vis-à-vis de l'insertion des éléments induisant la corrosion sur la surface. L'analyse morphologique a été renforcée par l'outil suivant, utilisant l'EDS comme extinction pour reconnaître et identifier les éléments sur la surface (Figure IV-15). Avec l'existence de *Citrus reticulata* en solution, une amélioration considérable de la

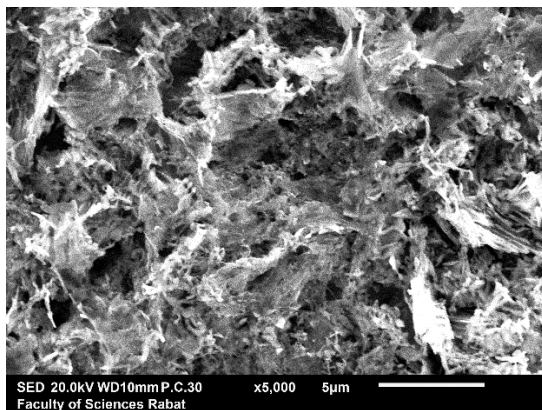
morphologie de la surface de l'acier doux a été soulignée. Certes, une forme relativement homogène de la surface dans l'inexistence d'agrégats de sortie de corrosion est évidemment soulignée. Cette remarque est probablement due à la production d'un grand film protecteur de *Citrus reticulata* sur la surface de l'acier doux[296] .



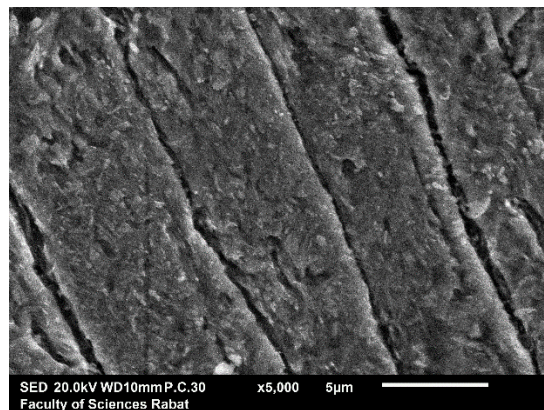
Sans HE



Avec HE



Sans PMFs



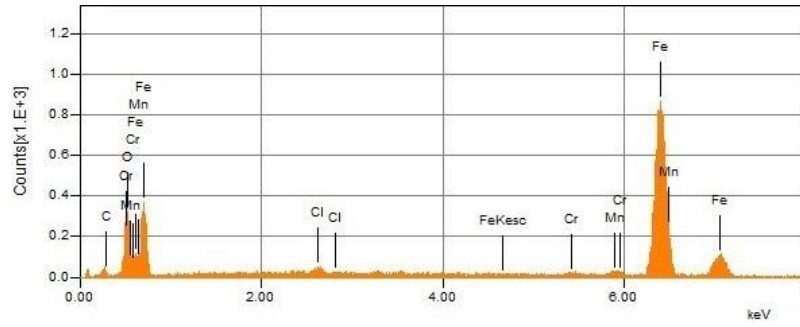
Avec PMFs

Figure IV- 13: (a) Sans la présence de l'inhibiteur *Citrus reticulata* et (b) Avec la présence de l'inhibiteur *Citrus reticulata*.

A cet égard, un outil typique, la méthode de microscopie électronique, a été expérimentée afin de localiser les différents éléments présents sur la surface de l'acier doux.

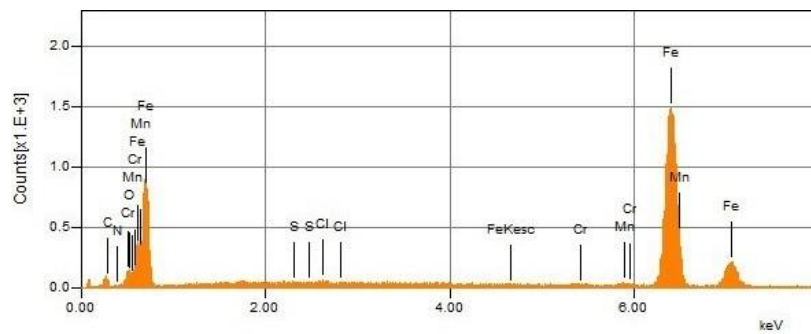
Sans

HE



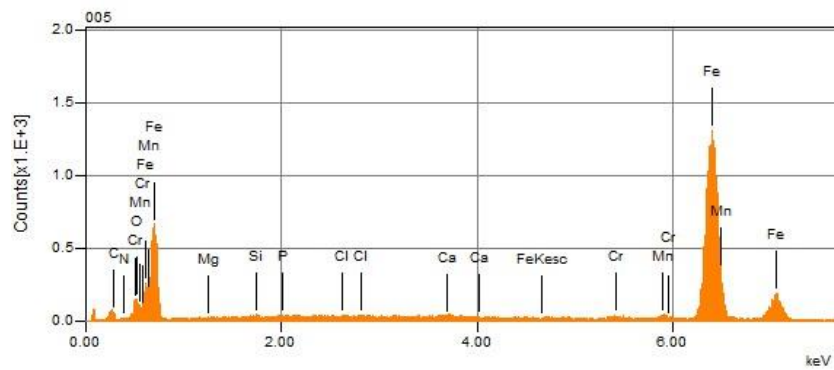
Avec

HE



Sans

PMFs



Avec

PMFs

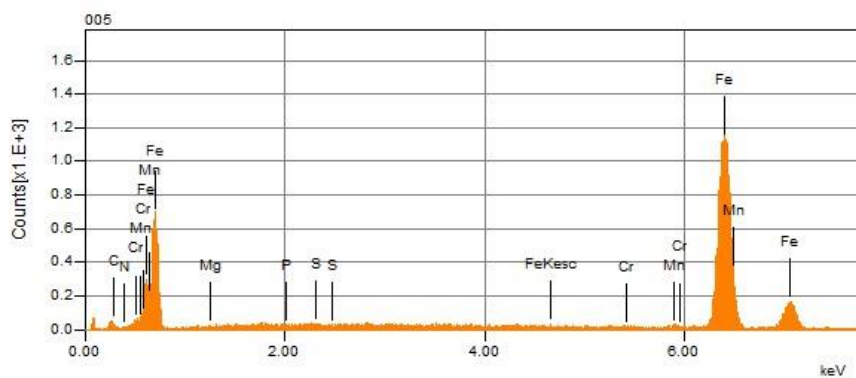


Figure IV- 14: a) Résultats EDS sans la présence de citrus reticulata et (b) Résultats EDS avec la présence de Citrus reticulata.

Avec la présence de *Citrus reticulata* (Figure IV-15b), démontre l'apparition de deux nouveaux pics, un de l'azote et l'autre est du soufre. De plus, l'analyse de la composition massique révèle la diminution des atomes d'oxygène et de chlore après l'ajout de *Citrus reticulata*, et ces éléments sont responsables du phénomène de corrosion. Alors qu'une augmentation du carbone est observée. La quantité de Fe avec l'intervention de *Citrus reticulata* augmente, en conséquence, c'est une raison de la protection du fer. L'image représentée décrit que les constituants actifs de l'huile essentielle de *Citrus reticulata* possèdent un effet significatif sur le processus de corrosion de la zone de l'électrode de travail, par la production d'un film protecteur à l'interface entre le métal et l'électrolyte[297]. En conclusion et en complément de toute cette partie expérimentale, il est nécessaire de mentionner qu'en termes d'analyse coût-bénéfice, l'inhibiteur étudié a été préparé sans utiliser de solvants coûteux ou toute autre étape de coût supplémentaire, l'huile essentielle ne nécessite que de l'eau distillée disponible et un chauffage pendant 4h. La combinaison de l'étude théorique avec l'étude expérimentale[298] pour évaluer l'efficacité d'un inhibiteur donne plus de détails sur le processus du phénomène. Ainsi, il peut être mieux décrit. Dans la prochaine étude, nous allons utiliser les caractéristiques DFT et MDR pour faire un examen théorique.

IV-5. Approche de la théorie fonctionnelle de la densité pour HE

La réactivité de notre inhibiteur organique étudié qui se comporte avec une activité d'anticorrosion d'un support spécimen a été évaluée théoriquement en utilisant la méthode de DFT[295]. La figure IV-16, montre le squelette de la structure après optimisation et les distributions de densité électronique HOMO et LUMO sur le d-limonène, la structure du composé principal. Elle souligne que la stabilité de la géométrie dans l'espace est assurée avec des fréquences positives. L'ensemble du squelette du composé amélioré était occupé par la distribution des deux niveaux HOMO et LUMO. Cette caractéristique citée accentue le fait que cet élément est hautement réactif devant la surface du fer. Par conséquent, une bonne protection avant la solution contenant des ions corrosifs sera faite.

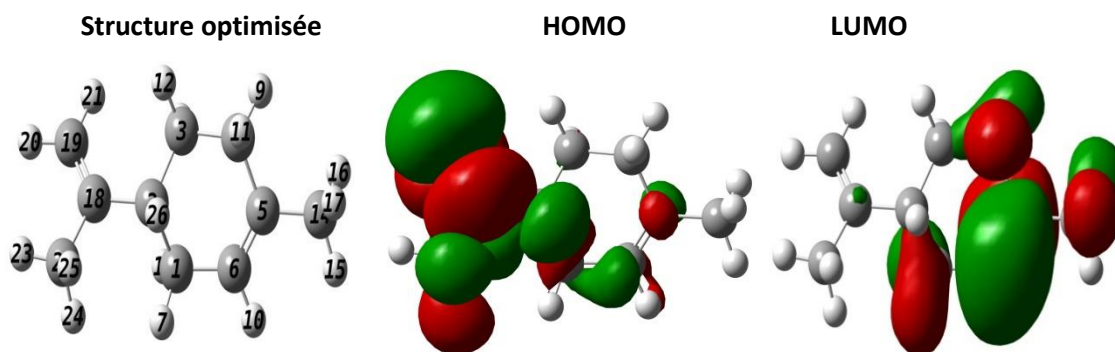


Figure IV- 15: Structure optimisée et distributions de densité électronique FMO.

Ci-dessous, dans le tableau IV-7, la réactivité globale avec une description complète. Les deux énergies, E_{HOMO} et E_{LUMO} , déterminent la capacité de donner et de retenir les électrons avec la surface de l'échantillon[296]. Une réactivité chimique significative a été soulignée et extraite des valeurs importantes mentionnées de E_{HOMO} autour de -6.166 eV et de la valeur plancher de l'énergie E_{LUMO} autour de 0.812 eV. Ainsi, une valeur plancher de ΔE_{gap} entourant 6.978 eV soutient la réactivité[297]. Nous approuvons le paragraphe mentionné, par d'autres descripteurs, qui sont, la dureté (η) et l'électronégativité (χ) dans lequel une réactivité chimique significative a été admise par la valeur plancher de ces deux descripteurs entourant $\eta = 3.489$ eV et $\chi = 2.677$ eV [298]. Un autre paramètre, qui est la capacité de donneur de l'électron a été souligné par ΔN_{110} [299]. Dans le tableau suivant, nous admettons que le d-limonène, qui est le composé majeur évalué est capable de céder ses électrons.

Tableau IV- 7: Paramètres de réactivité chimique décrivant le système électronique du D-limonène.

Descripteurs	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE_{gap} (eV)	χ (eV)	η (eV)	ΔN_{110}	μ (D)
d-Limonène	-6.166	0.812	6.978	2.677	3.489	0.307	0.458

Il est nécessaire de souligner que la majorité des sites actifs de notre inhibiteur, le d-limonène, dépend de la réactivité de la molécule inhibitrice et également de la vitesse de récupération de l'échantillon avant le phénomène de corrosion [300]. Deux méthodes sont utilisées pour réaliser cette tâche, le potentiel électrostatique moléculaire, en abrégé MEP et les indices de Fukui, en abrégé FI [301]. Dans la figure IV-17, il semble que la distribution de la topographie des deux, MEP et FI sur la molécule étudiée d-limonène soit évidente. Comme vous pouvez probablement le constater, dans la figure ci-dessous, le centre du donneur d'électrons (f (-)) est représenté par la couleur rouge, et les sites de l'accepteur d'électrons (f (+)) sont représentés par la couleur bleue. De plus, dans le tableau ci-dessous, les atomes C1, C4, C5 et C6 représentés par la couleur rouge ont un

potentiel pour donner leurs électrons à la surface du fer et en particulier aux sites vacants. Inversement, les atomes qui sont capables de retenir et de prendre des électrons sont C18 et C19. Ils peuvent accepter des électrons pour renforcer le phénomène d'adsorption du d-limonène sur le substrat.

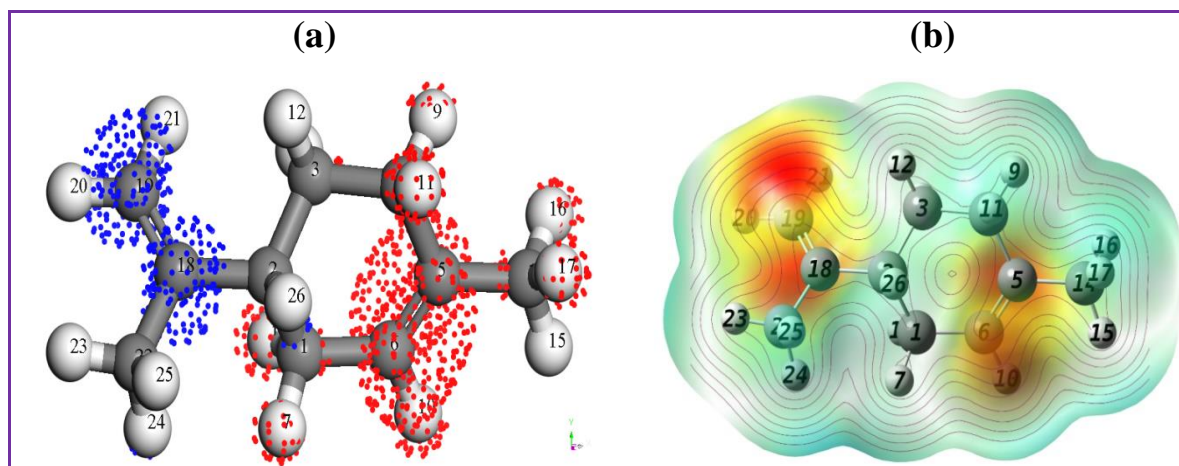


Figure IV- 16: Fonctions de Fukui (a) et répartitions MEP (b) sur la structure du d-limonène.

Tableau IV- 8: Sites d'indices de Fukui de d-limonène.

Atomes	$f(-)$	$f(+)$
C (1)	0.047	0.019
C (2)	0.004	0.019
C (3)	0.008	0.006
C (4)	0.042	0.010
C (5)	0.172	0.024
C (6)	0.210	0.027
C (14)	0.041	0.008
C (18)	0.003	0.157
C (19)	0.016	0.228
C (22)	0.003	0.038

Réactivité de la dynamique moléculaire (MDR)

Dans le but d'obtenir une bonne et stable adsorption, nous avons essayé la dynamique moléculaire de réactivité, abrégée MDR pour déterminer l'interaction du système nommé $E_{\text{interaction}}$ et la liaison nommée E_{binding} à la surface du fer (110) / d-limonène. Dans la figure ci-dessous, Figure IV-18, nous démontrons la configuration de l'adsorption du d-limonène. Suite à l'analyse visuelle, nous observons que la molécule que nous avons simulée fait une adsorption d'elle-même sur tout son squelette dans le but de couvrir une énorme partie du fer. Une bonne atténuation à l'acier doux a été menée par le d-limonène, provenant du comportement d'adsorption [302]. Les valeurs déterminées de $E_{\text{interaction}}$ et E_{binding} étaient respectivement -728.92 et 728.92 kJ mol⁻¹. Une adsorption forte et massive de d-limonène a été approuvée par la valeur de $E_{\text{interaction}}$

qui se manifeste avec une négativité et la valeur de E_{binding} qui se manifeste avec une positivité [303]. Une bonne et meilleure protection du matériau choisi, l'acier doux devant le milieu corrosif a été confirmée par l'inhibiteur choisi, le d-limonène, avec les avantages d'avoir plusieurs sites actifs.

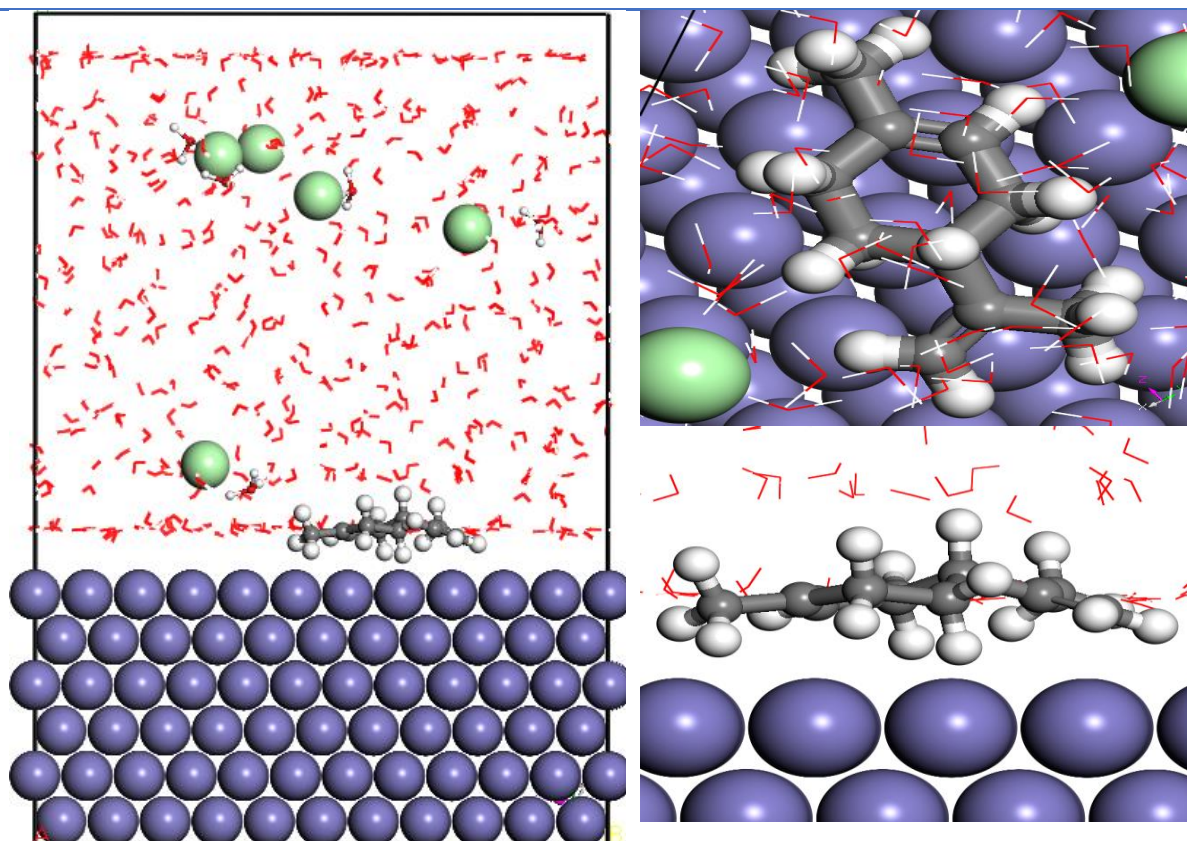


Figure IV- 17: Aspects de l'adsorption du d-Limonène sur le fer atomique.

Un outil supplémentaire a été essayé, nommé la fonction de distribution radiale, abrégée, RDF. L'objectif principal est de déterminer les distances des liaisons entre l'inhibiteur, qui est le d-limonène, et les atomes de Fe réunis dans la première couche (Fe (1 1 0))[304]. Comme il est rapporté dans la littérature, si le premier pic provenant de l'interaction des éléments Q avec les éléments N décrits dans la représentation graphique de $g_{QN}(r)$ en fonction de la distance r est trouvé entre les rangs 1 et 3,5 Å, il est généralement supposé sans aucun doute que la chimisorption est la nature de leur interaction, d'autre part, s'il existe à une valeur supérieure à 3,5 Å, nous parlons ici de physisorption[305,306]. Comme indiqué dans la figure IV-19 ci-dessous, nous avons les résultats de RDF. Il est évident et clair que la figure RDF trouvée concernant l'interaction se produisant entre le d-limonène et les atomes de surface de l'acier doux $g(r)$ Fe (110)-

d-limonène, est sortie à 1,75 Å. Le phénomène de chimisorption de notre inhibiteur écologique d-limonène sur la surface du fer Fe (1 1 0) soutient la production d'un film et d'une couche de protection qui se comportent comme une obstruction et éloignent l'acier doux du phénomène de dégradation et d'endommagement.

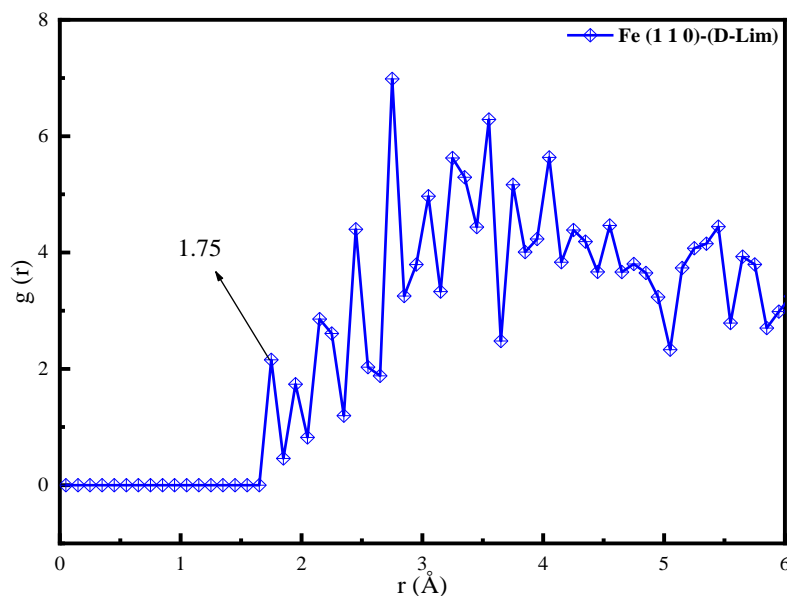


Figure IV- 18: RDF du d-Limonène sur le fer.

IV-6. Approche de la théorie fonctionnelle de la densité pour PMFs

Simulations DFT pour PMFs

La figure IV-20 montre la FMO optimisée pour la NOB et le HMF. Il n'y a pas de changement significatif dans les surfaces HOMO et LUMO entre les deux molécules : la plupart des orbitales HOMO sont situées sur le cycle aromatique isolé, et moins de surfaces sont situées sur les cycles fusionnés des molécules. Il convient de décrire l'influence de l'ajout d'un groupe méthoxy dans le HMF par rapport à la molécule NOB : cet ajout diminue les surfaces HOMO des anneaux fusionnés dans l'atome C12. Étant donné que le groupe méthoxy contient une densité d'électrons qui peut activer le cycle aromatique, l'oxygène diminue cet effet car il est plus électronégatif que le carbone et a donc tendance à attirer la densité d'électrons vers lui. Les orbitales LUMO n'ont pas changé car ce sont des orbitales inoccupées. La NOB et le HMF ont plusieurs liaisons sp^2 , qui contiennent ces orbitales inoccupées, et l'ajout d'un groupe méthoxy n'apporterait aucune différence car ce groupe chimique n'a que des liaisons sp^3 . Cette information est importante car la densité de LUMO dans les molécules peut révéler une caractéristique importante pour une molécule d'inhibiteur de corrosion, compte tenu de l'interaction

métal-ligand. Dans ce contexte, le fait d'avoir autant d'orbitales LUMO que possible est un résultat positif pour l'inhibition de la corrosion.

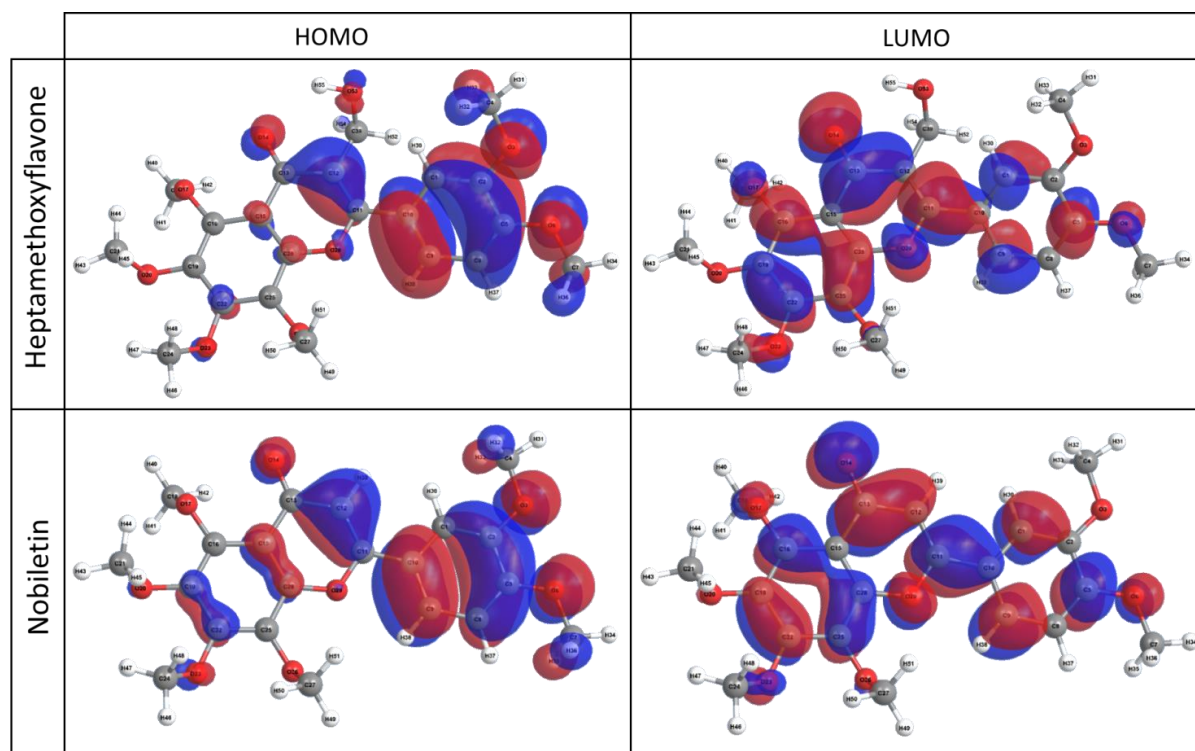


Figure IV- 19: Structures optimisées montrant les surfaces HOMO et LUMO des composés d'heptaméthoxyflavone et de nobiletine.

Les paramètres moléculaires pertinents pour les molécules de NOB et de HMF qui ont été dérivés des données de calcul sont énumérés dans le tableau IV-9. Les énergies HOMO représentent les orbitales les plus occupées dans les molécules et les deux molécules ont révélé une légère différence (environ 4,5%) dans l'HOMO, qui peut être corrélée avec l'ajout du groupe méthoxy dans le HMF qui a abaissé l'énergie HOMO de sa molécule. L'énergie LUMO de la molécule NOB, bien qu'ayant une énergie HOMO plus élevée que celle de la molécule HMF, n'a pas changé de manière significative (< 1%), car l'ajout du groupe méthoxy n'a pas modifié de manière significative la distribution LUMO de la molécule HMF par rapport à celle de la molécule NOB. Par conséquent, l'écart énergétique (ΔE) de la NOB est supérieur à celui de la HMF de 6,6% (ou 0,264 eV). L'écart énergétique étant un descripteur moléculaire qui reflète la réactivité de la molécule, plus ce descripteur est faible, meilleure sera l'interaction de la molécule (c'est-à-dire de l'inhibiteur) avec la surface de l'électrode, car le transfert d'électrons est plus favorable lorsque les orbitales HOMO et LUMO sont proches l'une de l'autre en termes d'énergie. À cet égard, des rapports antérieurs, par exemple celui de

Mendonça et al [307] ont démontré que certains aminoacides tels que la méthionine, la cystéine et l'arginine agissaient efficacement comme inhibiteurs de corrosion pour le cuivre et l'acier, tandis que la sérine, la glutamine et l'asparagine présentaient une faible efficacité anticorrosion pour les mêmes surfaces métalliques.

Tableau IV- 9: Paramètres calculés à partir de l'analyse des orbitales frontières pour les molécules de nobiletine et d'heptaméthoxyflavone.

Molécules	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE (eV)	ΔN
Nobiletine	-6.187	-1.931	4.256	-0.200
Heptaméthoxyflavone	-5.904	-1.912	3.992	-0.153

En outre, la corrélation entre l'écart énergétique et l'efficacité de l'inhibition de la corrosion s'est avérée linéaire, et un écart énergétique plus élevé a conduit à une efficacité d'inhibition plus faible. Si l'on considère l'écart énergétique du pire inhibiteur pour une électrode en acier au carbone, ΔE était d'environ 8,0 eV, ce qui signifie que des écarts énergétiques plus élevés entraveront le transfert de charge provenant du métal. Récemment, Díaz-Cárdenas et al. ont montré l'efficacité anticorrosion de la chryisine, un flavonoïde similaire, dans de l'acide sulfurique 0,5 M sur une électrode en acier au carbone, et l'écart énergétique calculé à partir d'un niveau de calcul similaire était de 3,12 eV [308]. Si l'on considère cette comparaison avec d'autres inhibiteurs, les molécules de NOB et de HMF ont un grand potentiel en tant que molécules anticorrosives. En outre, le nombre d'électrons transférés (ΔN) a été calculé et des ΔN de -0,200 et -0,153 ont été obtenus pour la NOB et le HMF, respectivement. Selon Lukovits et al [309], les valeurs ΔN inférieures à 3,6 suggèrent que la molécule d'inhibiteur a tendance à partager sa densité d'électrons avec la surface de l'électrode. Étant donné que les molécules de NOB et de HMF ont des orbitales LUMO réparties sur elles, il est raisonnable de proposer une liaison de coordination entre le métal de l'électrode et l'inhibiteur. De la même manière que l'électrode s'oxyde dans l'environnement corrosif, ces densités de charge sont absorbées par la molécule d'inhibiteur elle-même et, par conséquent, cette densité d'électrons est rétrocedée à l'électrode. Par conséquent, la synergie microscopique entre la molécule d'inhibiteur et la surface de l'électrode est vitale pour une inhibition réussie de la corrosion.

Aperçu des mécanismes

Sur la base des tests électrochimiques, de la thermodynamique, des données

microscopiques et des calculs DFT, un mécanisme d'inhibition de la corrosion est proposé dans la figure IV-21. Sans inhibiteur, la surface de l'acier à faible teneur en carbone est sujette à l'oxydation, qui est considérablement réduite par l'ajout de PMF qui forment un film protecteur sur la surface de l'acier. L'inhibition par la formation d'une barrière physique sur la surface est probablement améliorée par un effet synergique entre les principaux composés de l'extrait, le HMF et le NOB, et d'autres composants mineurs de l'extrait. Un effet synergique similaire a été rapporté pour un mélange multicomposant d'inhibiteurs de polymères[310]. La nature de ces composés inhibiteurs permet à la fois la physisorption et la chimisorption, comme l'illustre la figure IV-21. L'acier subit une oxydation dans le milieu HCl, ce qui rend sa surface chargée positivement et favorise par conséquent l'interaction des groupes chargés négativement de l'inhibiteur sur celle-ci. L'adsorption des molécules de PMF sur la surface de l'acier s'effectue selon trois types de processus : la chimisorption, la physisorption et la rétrodonation. La chimisorption et la rétrodonation se produisent via le don d'électrons solitaires des atomes d'oxygène disponibles ainsi que des électrons π de l'anneau benzénique et des orbitales d vacantes des atomes de fer. La physisorption implique l'interaction électrostatique entre les molécules anticorrosion chargées et les métaux chargés.

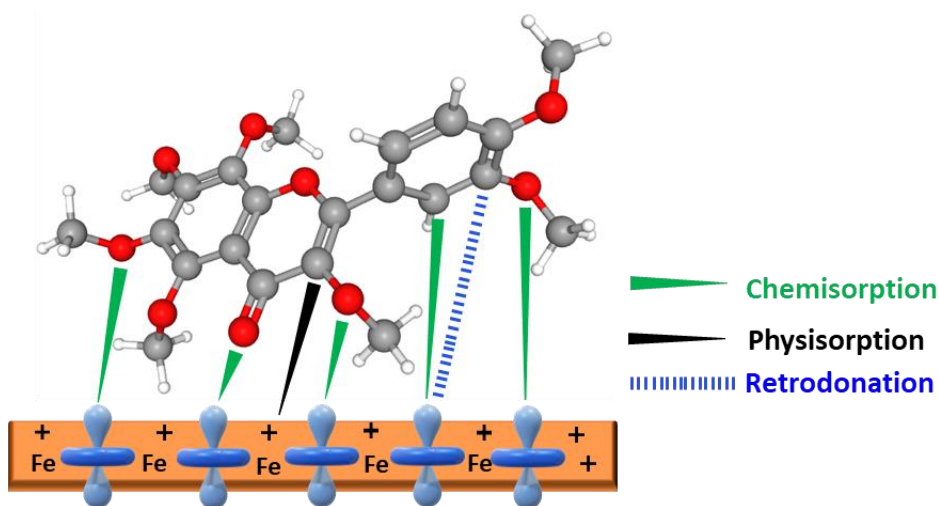


Figure IV- 20: Illustration schématique du mécanisme d'adsorption proposé pour la molécule de HMF à la surface de l'acier

Conclusion

Le résidu de *Citrus reticulata* a été efficacement recyclé pour produire un film protecteur respectueux de l'environnement contre la corrosion de l'acier à faible teneur en carbone dans un environnement acide contenant de l'acide chlorhydrique (HCl). Notre analyse nous a permis d'identifier cinq polyméthoxyflavones (PMF) dans l'extrait de citrus, en utilisant la chromatographie sur colonne flash, la CLHP préparative, la RMN-¹H, la RMN-¹³C et la HR-ESI-MS, la nobiletine et l'heptaméthoxyflavone étant les PMFs clés. Les PMFs ont montré une efficacité d'inhibition remarquable, atteignant 94% à une concentration de 200 ppm. En outre, notre étude a révélé que les PMFs formaient un film protecteur sur la surface de l'acier, agissant comme une barrière physique contre les espèces corrosives. Les simulations DFT ont permis de mieux comprendre les mécanismes d'adsorption et d'inhibition, soulignant l'importance des groupes fonctionnels spécifiques de la nobiletine et de l'heptaméthoxyflavone pour une protection efficace contre la corrosion. Cette recherche ouvre des perspectives passionnantes pour l'utilisation des résidus de citrus comme solution durable pour la prévention de la corrosion dans diverses applications industrielles.

Conclusion générale

En conclusion, ce mémoire présente une étude approfondie sur le potentiel pharmaceutique des métabolites secondaires extraits des déchets de citrus, en se concentrant particulièrement sur la variété de *Citrus reticulata* provenant de trois régions distinctes, à savoir Berkane, Marrakech et Agadir. Les résultats obtenus révèlent que ces métabolites présentent une gamme de propriétés prometteuses qui ouvrent la voie à des applications potentielles dans le domaine pharmaceutique et industriel. Tout d'abord, les composés volatils extraits ont montré un rendement significatif de 2,13%, avec le limonène comme composé majoritaire, représentant 82% de la composition. Les composés non volatils ont été obtenus par une série d'étapes d'extraction, isolation et purification, aboutissant à l'isolement de cinq métabolites secondaires, dont le NOB et le HEM se sont révélés être les composés prédominants. L'activité antioxydante de ces métabolites a été évaluée de manière approfondie, montrant une valeur IC_{50} significative de 2,04 mmol, démontrant ainsi leur forte capacité antioxydante. De plus, ces métabolites ont montré une efficacité antibactérienne en respectant une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 12,5 $\mu\text{g/mL}$ sur quatre souches bactériennes différentes. Les applications dans la prévention de la corrosion ont également été étudiées avec des résultats remarquables, montrant une efficacité de l'ordre de 92% pour les composés volatils et de 93% pour les composés non volatils. Ces résultats ont été corroborés par des analyses de surface, notamment la microscopie électronique à balayage couplée à la spectrométrie de dispersion d'énergie (MEB-EDS) et la spectrophotométrie UV-vis. En outre, une étude théorique DFT a été réalisée pour explorer les interactions possibles entre l'inhibiteur de citrus, le matériau de l'acier doux, et l'environnement corrosif de l'acide chlorhydrique (HCl), renforçant ainsi la compréhension de ces mécanismes. En somme, les métabolites secondaires extraits des déchets de citrus démontrent des propriétés prometteuses en tant qu'agents antioxydants, antibactériens, et anti-corrosion. Ces découvertes ouvrent de nouvelles perspectives dans les domaines pharmaceutique et industriel, offrant des opportunités potentielles pour l'utilisation de ces métabolites dans des applications variées, et contribuant ainsi à une utilisation plus durable des ressources naturelles.

Références bibliographiques :

- [1] Y. Zhang, J. Nielsen, Z. Liu, Engineering yeast metabolism for production of terpenoids for use as perfume ingredients, pharmaceuticals and biofuels, *FEMS Yeast Res.* 17 (2017). <https://doi.org/10.1093/femsyr/fox080>.
- [2] M. Saber, H. Harhar, A. Bouyahya, T. Ouchbani, M. Tabyaoui, Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of sawdust from moroccan thuya (*Tetraclinis articulata* (vahl) masters, *Biointerface Res Appl Chem.* 11 (2021) 7912–7920. <https://doi.org/10.33263/BRIAC111.79127920>.
- [3] S. Saeb, M. Amin, R. Seyfi Gooybari, N. Aghel, Evaluation of Antibacterial Activities of Citrus limon, *Citrus reticulata*, and *Citrus grandis* Against Pathogenic Bacteria, *Int J Enteric Pathog.* 4 (2016) 11–15. <https://doi.org/10.15171/ijep.2016.13>.
- [4] D. Trabelsi, A.M. Hamdane, M. Ben Said, M. Abdrrabba, Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils from Flowers, Leaves and Peels of Tunisian Citrus aurantium Against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*, *Journal of Essential Oil-Bearing Plants.* 19 (2016) 1660–1674. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1141069>.
- [5] A.J. Vieira, F.P. Beserra, M.C. Souza, B.M. Totti, A.L. Rozza, Limonene: Aroma of innovation in health and disease, *Chem Biol Interact.* 283 (2018) 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.007>.
- [6] G. Pizzino, N. Irrera, M. Cucinotta, G. Pallio, F. Mannino, V. Arcoraci, F. Squadrito, D. Altavilla, A. Bitto, Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health, *Oxid Med Cell Longev.* 2017 (2017). <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.
- [7] H.M. Amin, A. Galal, Corrosion protection of metals and alloys using graphene and biopolymer based nanocomposites, Book, CRC Press, 2021. api.taylorfrancis.com (accessed November 1, 2023).
- [8] T. Yimyai, R. Thiramanas, T. Phakkeeree, S. Iamsaard, D. Crespy, Adaptive Coatings with Anticorrosion and Antibiofouling Properties, *Adv Funct Mater.* 31 (2021). <https://doi.org/10.1002/adfm.202102568>.
- [9] P.B. Raja, M. Ismail, S. Ghoreishiamiri, J. Mirza, M.C. Ismail, S. Kakooei, A.A. Rahim, Reviews on Corrosion Inhibitors: A Short View, *Chem Eng Commun.* 203 (2016) 1145–1156. <https://doi.org/10.1080/00986445.2016.1172485>.
- [10] M. Boudalia, A. Guenbour, A. Bellaouchou, R.M. Fernandez-Domene, J. Garcia-Anton, Corrosion behaviour of a highly alloyed austenitic alloy UB6 in contaminated phosphoric acid, *International Journal of Corrosion.* 2013 (2013). <https://doi.org/10.1155/2013/363826>.
- [11] A. Kokalj, Corrosion inhibitors: physisorbed or chemisorbed?, *Corros Sci.* 196 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2021.109939>.
- [12] M. Boudalia, R.M. Fernández-Domene, L. Guo, S. Echihi, M.E. Belghiti, A. Zarrouk, A. Bellaouchou, A. Guenbour, J. García-Antón, Experimental and Theoretical Tests on the Corrosion Protection of Mild Steel in Hydrochloric Acid Environment by the Use of Pyrazole Derivative, *Materials.* 16 (2023). <https://doi.org/10.3390/ma16020678>.

- [13] P. Singh, V. Srivastava, M.A. Quraishi, Novel quinoline derivatives as green corrosion inhibitors for mild steel in acidic medium: Electrochemical, SEM, AFM, and XPS studies, *J Mol Liq.* 216 (2016) 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.12.086>.
- [14] M. Laourayed, M. El Moudane, M. Khachani, M. Boudalia, A. Guenbour, A. Bellaouchou, A. Zarrouk, Thermal, structural and corrosion inhibition performances of a new phosphate glasses on mild steel in HCl medium, *Chemical Data Collections.* 24 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2019.100305>.
- [15] H. Wei, D. Ding, S. Wei, Z. Guo, Anticorrosive conductive polyurethane multiwalled carbon nanotube nanocomposites, *J Mater Chem A Mater.* 1 (2013) 10805–10813. <https://doi.org/10.1039/c3ta11966a>.
- [16] Á.F. Szőke, G. Szabó, Z. Simó, Z. Hórvölgyi, E. Albert, A.G. Végh, L. Zimányi, L.M. Muresan, Chitosan coatings ionically cross-linked with ammonium paratungstate as anticorrosive coatings for zinc, *Eur Polym J.* 118 (2019) 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.05.057>.
- [17] S. Marzorati, L. Verotta, S.P. Trasatti, Green corrosion inhibitors from natural sources and biomass wastes, *Molecules.* 24 (2019). <https://doi.org/10.3390/molecules24010048>.
- [18] S. Mo, H.Q. Luo, N.B. Li, Plant extracts as “green” corrosion inhibitors for steel in sulphuric acid, *Chemical Papers.* 70 (2016) 1131–1143. <https://doi.org/10.1515/chempap-2016-0055>.
- [19] S.H. Alrefaee, K.Y. Rhee, C. Verma, M.A. Quraishi, E.E. Ebenso, Challenges and advantages of using plant extract as inhibitors in modern corrosion inhibition systems: Recent advancements, *J Mol Liq.* 321 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114666>.
- [20] K. Mouflih, K. El Mouaden, M. Boudalia, A. Bellaouchou, M. Tabyaoui, A. Guenbour, I. Warad, A. Zarrouk, The Effect of the Moroccan *Salvadora Persica* Extract on the Corrosion Behavior of the Ni–Cr Non-precious Dental Alloy in Artificial Saliva, *J Bio Tribocorros.* 7 (2021). <https://doi.org/10.1007/s40735-021-00495-7>.
- [21] H. Wei, B. Heidarshenas, L. Zhou, G. Hussain, Q. Li, K. (Ken) Ostrikov, Green inhibitors for steel corrosion in acidic environment: state of art, *Materials Today Sustainability.* 10 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2020.100044>.
- [22] S. Sengupta, M. Murmu, S. Mandal, H. Hirani, P. Banerjee, Competitive corrosion inhibition performance of alkyl/acyl substituted 2-(2-hydroxybenzylideneamino)phenol protecting mild steel used in adverse acidic medium: A dual approach analysis using FMOs/molecular dynamics simulation corroborated experimental findings, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 617 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126314>.
- [23] I.B. Obot, D.D. Macdonald, Z.M. Gasem, Density functional theory (DFT) as a powerful tool for designing new organic corrosion inhibitors: Part 1: An overview, *Corros Sci.* 99 (2015) 1–30. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2015.01.037>.
- [24] M. Boudalia, R.M. Fernández-Domene, M. Tabyaoui, A. Bellaouchou, A. Guenbour, J. García-Antón, Green approach to corrosion inhibition of stainless steel in phosphoric acid of *Artemisia herba albamedium* using plant extract, *Journal of Materials Research and Technology.* 8 (2019) 5763–5773. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.09.045>.
- [25] L.L. Liao, S. Mo, H.Q. Luo, N.B. Li, Corrosion protection for mild steel by extract from the waste of lychee fruit in HCl solution: Experimental and theoretical studies, *J Colloid Interface Sci.* 520 (2018) 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.02.071>.

- [26] Y. Liu, Z. Song, W. Wang, L. Jiang, Y. Zhang, M. Guo, F. Song, N. Xu, Effect of ginger extract as green inhibitor on chloride-induced corrosion of carbon steel in simulated concrete pore solutions, *J Clean Prod.* 214 (2019) 298–307. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.299>.
- [27] K.W. Tan, M.J. Kassim, A correlation study on the phenolic profiles and corrosion inhibition properties of mangrove tannins (*Rhizophora apiculata*) as affected by extraction solvents, *Corros Sci.* 53 (2011) 569–574. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2010.09.065>.
- [28] M.A. Deyab, Q. Mohsen, E. Bloise, M.R. Lazzoi, G. Mele, Experimental and theoretical evaluations on Oleuropein as a natural origin corrosion inhibitor for copper in acidic environment, *Sci Rep.* 12 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11598-7>.
- [29] A.A. Ayoola, R. Babalola, B.M. Durodola, E.E. Alagbe, O. Agboola, E.O. Adegbile, Corrosion inhibition of A36 mild steel in 0.5 M acid medium using waste citrus limonum peels, *Results in Engineering.* 15 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2022.100490>.
- [30] K. Chandhirasekar, A. Thendralmanikandan, P. Thangavelu, B.S. Nguyen, T.A. Nguyen, K. Sivashanmugan, A. Nareshkumar, V.H. Nguyen, Plant-extract-assisted green synthesis and its larvicidal activities of silver nanoparticles using leaf extract of *Citrus medica*, *Tagetes lemmonii*, and *Tarenna asiatica*, *Mater Lett.* 287 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.129265>.
- [31] M. V. Fiori-Bimbi, P.E. Alvarez, H. Vaca, C.A. Gervasi, Corrosion inhibition of mild steel in HCL solution by pectin, *Corros Sci.* 92 (2015) 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2014.12.002>.
- [32] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar, Biological effects of essential oils - A review, *Food and Chemical Toxicology.* 46 (2008) 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- [33] S. Berger, A.K. Sinha, T. Roitsch, Plant physiology meets phytopathology: Plant primary metabolism and plant-pathogen interactions, *J Exp Bot.* 58 (2007) 4019–4026. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm298>.
- [34] F. Perineau, L. Ganou, G. Vilarem, Studying Production of Lovage Essential Oils in a Hydrodistillation Pilot Unit Equipped with a Cohobation, 1992.
- [35] R. Yao, M. Heinrich, C.S. Weckerle, The genus *Lycium* as food and medicine: A botanical, ethnobotanical and historical review, *J Ethnopharmacol.* 212 (2018) 50–66. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.010>.
- [36] B. Ali, N.A. Al-Wabel, S. Shams, A. Ahamad, S.A. Khan, F. Anwar, Essential oils used in aromatherapy: A systemic review, *Asian Pac J Trop Biomed.* 5 (2015) 601–611. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>.
- [37] S. Chouhan, K. Sharma, S. Guleria, Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives, *Medicines.* 4 (2017) 58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>.
- [38] J. Barnes, Blackwell Science, Ltd Oxford, UK BCPBritish Journal of Clinical Pharmacology 0306-5251Blackwell Publishing 2003 55Review Article Complementary medicines. Part I: Regulation and qualityJ, Barnes, 2003.
- [39] Z.D. Stevanović, J. Bošnjak-Neumüller, I. Pajić-Lijaković, J. Raj, M. Vasiljević, Essential oils as feed additives—Future perspectives, *Molecules.* 23 (2018). <https://doi.org/10.3390/molecules23071717>.

- [40] G. Nieto, Biological Activities of Three Essential Oils of the Lamiaceae Family, *Medicines*. 4 (2017) 63. <https://doi.org/10.3390/medicines4030063>.
- [41] M. Mohammadhosseini, S.D. Sarker, A. Akbarzadeh, Chemical composition of the essential oils and extracts of *Achillea* species and their biological activities: A review, *J Ethnopharmacol*. 199 (2017) 257–315. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.010>.
- [42] J.F. Larrow, E.N. Jacobsen, Y. Gao, Y. Hong, X. Nie, C.M. Zepp, A Practical Method for the Large-Scale Preparation of EN,N-Bis(3,5-di-tert-butylsalicylidene)-1,2-~cyclohexanediaminato(2-)]manganese (111) Chloride, a Highly Enantioselective Epoxidation Catalyst, 1994.
- [43] R. Singh Sangwan, N. Singh-Sangwan, R. Luthra, Metabolism of Acyclic Monoterpenes: Partial Purification and Properties of Geraniol Dehydrogenase from Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) Leaves, *J Plant Physiol*. 142 (1993) 129–134. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80952-1](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80952-1).
- [44] E.M. Huston, J.A. Milligan, J.R. Powell, A.M. Smith, D. Neal, K.M. Duval, M.A. Dinardo, C. Stoddard, P.A. Bell, A.W. Berning, P. Wipf, G.C. Bandik, Development of an undergraduate course in chemical laboratory safety through an academic/industrial collaboration, *J Chem Educ*. 95 (2018) 577–583. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00599>.
- [45] A. Smith-Palmer, J. Stewart, L. Fyfe, Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens, 1998.
- [46] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar, Biological effects of essential oils - A review, *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2008) 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- [47] G. Amor, L. Caputo, A. La Storia, V. De Feo, G. Mauriello, T. Fechtali, Chemical composition and antimicrobial activity of artemisia herba-alba and origanum majorana essential oils from Morocco, *Molecules*. 24 (2019). <https://doi.org/10.3390/molecules24224021>.
- [48] D. Kalembe, A. Kunicka, Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils, 2003.
- [49] A. Kunicka-Styczyńska, M. Sikora, D. Kalembe, Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems, *J Appl Microbiol*. 107 (2009) 1903–1911. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04372.x>.
- [50] P.K. Lai, J. Roy, Antimicrobial and Chemopreventive Properties of Herbs and Spices, 2004.
- [51] S. Burt, Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review, *Int J Food Microbiol*. 94 (2004) 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- [52] F.C. Terblanché, G. Kornelius, Essential oil constituents of the genus *lippia* (verbenaceae)— a literature review, *Journal of Essential Oil Research*. 8 (1996) 471–485. <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700673>.
- [53] N.G. Baydar, H. Baydar, Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts, *Ind Crops Prod*. 41 (2013) 375–380. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.045>.
- [54] J.K. Moon, T. Shibamoto, Antioxidant assays for plant and food components, *J Agric Food Chem*. 57 (2009) 1655–1666. <https://doi.org/10.1021/jf803537k>.

- [55] A. Bianchi, A. Zambonelli, A. Zechini D'aulerio, Ultrastructural Studies of the Effects of *Allium sativum* on Phytopathogenic Fungi in vitro, 1997.
- [56] S. Mahmood, S. Hussain, F. Malik, REVIEW Critique of medicinal conspicuousness of Parsley (*Petroselinum crispum*): A culinary herb of Mediterranean region, 2014.
- [57] X. Xu, H. Xu, Y. Shang, R. Zhu, X. Hong, Z. Song, Z. Yang, Development of the general chapters of the Chinese Pharmacopoeia 2020 edition: A review, *J Pharm Anal.* 11 (2021) 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.05.001>.
- [58] R.M. Shrivastava, R.C. Agrawal, Z. Parveen, A Review on Therapeutic Applications of *Nigella Sativa*, 2011.
- [59] A.D. Kinghorn, Pharmacognosy in the 21st century, *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 53 (2010) 135–148. <https://doi.org/10.1211/0022357011775334>.
- [60] T. Cornwell, W. Cohick, I. Raskin, Dietary phytoestrogens and health, *Phytochemistry.* 65 (2004) 995–1016. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.03.005>.
- [61] G. Corona, Y. Ji, P. Anegboonlap, S. Hotchkiss, C. Gill, P. Yaqoob, J.P.E. Spencer, I. Rowland, Gastrointestinal modifications and bioavailability of brown seaweed phlorotannins and effects on inflammatory markers, *British Journal of Nutrition.* 115 (2016) 1240–1253. <https://doi.org/10.1017/S0007114516000210>.
- [62] S.M. Nabavi, S. Habtemariam, S.F. Nabavi, A. Sureda, M. Daglia, A.H. Moghaddam, M.A. Amani, Protective effect of gallic acid isolated from *Peltiphyllum peltatum* against sodium fluoride-induced oxidative stress in rat's kidney, *Mol Cell Biochem.* 372 (2013) 233–239. <https://doi.org/10.1007/s11010-012-1464-y>.
- [63] S. Luan, J. Kudla, M. Rodriguez-Concepcion, S. Yalovsky, W. Gruissem, Calmodulins and calcineurin B-like proteins: Calcium sensors for specific signal response coupling in plants, *Plant Cell.* 14 (2002). <https://doi.org/10.1105/tpc.001115>.
- [64] D. Kozłowski, P. Marsal, M. Steel, R. Mokriani, J.L. Duroux, R. Lazzaroni, P. Trouillas, Theoretical investigation of the formation of a new series of antioxidant depsides from the radiolysis of flavonoid compounds, *Radiat Res.* 168 (2007) 243–252. <https://doi.org/10.1667/RR0824.1>.
- [65] H. Sakagami, K. Hashimoto, F. Suzuki, T. Ogiwara, K. Satoh, H. Ito, T. Hatano, Y. Takashi, S.I. Fujisawa, Molecular requirements of lignin-carbohydrate complexes for expression of unique biological activities, in: *Phytochemistry*, Elsevier Ltd, 2005: pp. 2108–2120. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.05.013>.
- [66] A. Marfak, P. Trouillas, D.P. Allais, C.A. Calliste, J. Cook-Moreau, J.L. Duroux, Reactivity of flavonoids with 1-hydroxyethyl radical: A γ -radiolysis study, *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 1670 (2004) 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2003.10.010>.
- [67] W. Quan, J.L. Hee, Y.K. Chul, W.N. Chu, H.U. Byung, M.H. Oak, K.M. Kim, Anti-allergic prenylated flavonoids from the roots of *Sophora flavescens*, *Planta Med.* 74 (2008) 168–170. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1034285>.
- [68] P.J. Horn, C. Benning, The plant lipidome in human and environmental health, *Science* (1979). 353 (2016) 1228–11232. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6206>.

- [69] S.U. Larsen, U. Jørgensen, J.B. Kjeldsen, P.E. Lærke, Long-Term Miscanthus Yields Influenced by Location, Genotype, Row Distance, Fertilization and Harvest Season, *Bioenergy Res.* 7 (2014) 620–635. <https://doi.org/10.1007/s12155-013-9389-1>.
- [70] Bernard. Testa, U.A. Meyer, *Advances in drug research.* 28, Academic Press, 1996.
- [71] Y. Muramatsu, T. Nomura, Y. Shimizu, Mass limit for light flavon with residual Z3 symmetry, *Journal of High Energy Physics.* 2016 (2016). [https://doi.org/10.1007/JHEP03\(2016\)192](https://doi.org/10.1007/JHEP03(2016)192).
- [72] W. Jung, O. Yu, S.-M.C. Lau, D.P. O’keefe, J. Odell, G. Fader, B. Mcgonigle, Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes, 2000. <http://biotech.nature.com>.
- [73] J. Valls, S. Millán, M.P. Martí, E. Borràs, L. Arola, Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols, *J Chromatogr A.* 1216 (2009) 7143–7172. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.07.030>.
- [74] R. Grougnet, P. Magiatis, N. Fokialakis, S. Mitaku, A.L. Skaltsounis, F. Tillequin, T. Sévenet, M. Litaudon, Koniamborine, the first pyrano[3,2-b]indole alkaloid and other secondary metabolites from *Boronella koniambiensis*, *J Nat Prod.* 68 (2005) 1083–1086. <https://doi.org/10.1021/np050013w>.
- [75] J.J. Gutierrez-Gonzalez, S.K. Guttikonda, L.S.P. Tran, D.L. Aldrich, R. Zhong, O. Yu, H.T. Nguyen, D.A. Sleper, Differential expression of isoflavone biosynthetic genes in soybean during water deficits, *Plant Cell Physiol.* 51 (2010) 936–948. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq065>.
- [76] T.J. Schmidt, S.A. Khalid, A.J. Romanha, T.M.A. Alves, M.W. Biavatti, R. Brun, F.B. Da Costa, S.L. De Castro, V.F. Ferreira, M.V.G. De Lacerda, J.H.G. Lago, L.L. Leon, N.P. Lopes, R.C. Das, N. Amorim, M. Niehues, I. V Ogungbe, A.M. Pohlit, M.T. Scotti, W.N. Setzer, M. De, N.C. Soeiro, M. Steindel, A.G. Tempone, *The Potential of Secondary Metabolites from Plants as Drugs or Leads Against Protozoan Neglected Diseases-Part II*, 2012. <http://www.uni-muenster.de/ResNet>.
- [77] P.J. Hernes, J.I. Hedges, Tannin signatures of barks, needles, leaves, cones, and wood at the molecular level, *Geochim Cosmochim Acta.* 68 (2004) 1293–1307. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2003.09.015>.
- [78] M.O. Osungunna, Screening of medicinal plants for antimicrobial activity: Pharmacognosy and microbiological perspectives, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences.* 9 (2020) 727–735. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.4.727-735>.
- [79] K.L. Martin Christy Appel, *Nutrition and Dietary Supplements Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword*, 2010. www.dovepress.com.
- [80] S. Preys, G. Mazerolles, P. Courcoux, A. Samson, U. Fischer, M. Hanafi, D. Bertrand, V. Cheynier, Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses, in: *Anal Chim Acta*, 2006: pp. 126–136. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.082>.
- [81] J.F. Wang, S.S. Liu, Z.Q. Song, T.C. Xu, C.S. Liu, Y.G. Hou, R. Huang, S.H. Wu, Naturally Occurring Flavonoids and Isoflavonoids and Their Microbial Transformation: A Review, *Molecules.* 25 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25215112>.
- [82] M.E. Obrenovich, N.G. Nair, A. Beyaz, G. Aliev, V.P. Reddy, The role of polyphenolic antioxidants in health, disease, and aging, *Rejuvenation Res.* 13 (2010) 631–643. <https://doi.org/10.1089/rej.2010.1043>.

- [83] G.F. Ferrazzano, I. Amato, A. Ingenito, A. Zarrelli, G. Pinto, A. Pollio, Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: A review, *Molecules*. 16 (2011) 1486–1507. <https://doi.org/10.3390/molecules16021486>.
- [84] U. Fuchs, POTENTIALS AND LIMITATIONS OF THE NATURAL ANTIOXIDANTS RRR-ALPHA-TOCOPHEROL, L-ASCORBIC ACID AND-CAROTENE IN CUTANEOUS PHOTOPROTECTION, 1998.
- [85] T. Wu, X. Zang, M. He, S. Pan, X. Xu, Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-Escherichia coli activity and inhibition of DNA gyrase, *J Agric Food Chem*. 61 (2013) 8185–8190. <https://doi.org/10.1021/jf402222v>.
- [86] H. Tsuchiya, M. Inuma, Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*, *Phytomedicine*. 7 (2000) 161–165. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80089-6](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80089-6).
- [87] M. Heinrich, H.L. Teoh, Galanthamine from snowdrop - The development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge, *J Ethnopharmacol*. 92 (2004) 147–162. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.012>.
- [88] M.-H. Yang, C.-H. Wang, H.-L. Chen, Green, oolong and black tea extracts modulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats fed high-sucrose diet, 2001.
- [89] J.R. Monaghan, A.C. Stier, F. Michonneau, M.D. Smith, B. Pasch, M. Maden, A.W. Seifert, Experimentally induced metamorphosis in axolotls reduces regenerative rate and fidelity, *Regeneration*. 1 (2014) 2–14. <https://doi.org/10.1002/reg2.8>.
- [90] C. Flora, N. David, G. Mathias, M. Andrew, P. Jean-Christophe Poggiale, Structural sensitivity of biological models revisited, *J Theor Biol*. 283 (2011) 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2011.05.021>.
- [91] S. Liu, H. Lu, Q. Zhao, Y. He, J. Niu, A.K. Debnath, S. Wu, S. Jiang, Theaflavin derivatives in black tea and catechin derivatives in green tea inhibit HIV-1 entry by targeting gp41, *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 1723 (2005) 270–281. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.02.012>.
- [92] A. Villar, M.A. Gascó, M.J. Alcaraz, Some aspects of the inhibitory activity of hypolaetin-8-glucoside in acute inflammation, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 39 (1987) 502–507. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1987.tb03166.x>.
- [93] C.M. Shih, H. Lin, Y.C. Liang, W. Sen Lee, W.F. Bi, S.H. Juan, Concentration-dependent differential effects of quercetin on rat aortic smooth muscle cells, *Eur J Pharmacol*. 496 (2004) 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.06.016>.
- [94] P.S. Chaudhry, J. Cabrera, H.R. Julian, S.D. Varma, INHIBITION OF HUMAN LENS ALDOSE REDUCTASE BY FLAVONOIDS, SULINDAC AND INDOMETHACIN, 1983.
- [95] K.C. Ong, H.-E. Khoo, Biological Effects of Myricetin, Elsevier Science Inc, 1997.
- [96] A. Subar, B. Patterson, Fruit, Vegetables, and Cancer Prevention: A Review of the Epidemiological Evidence, *Nutr Cancer*. 18 (1992) 1–29. <https://doi.org/10.1080/01635589209514201>.
- [97] C. Manach, C. Morand, O. Texœer, M.-L. Favier, G. Agãello, C. Demignã, ‡oise Rã%ogã%orat, C. Rã%omã%osy2, Nutrient Metabolism Quercetin Metabolites In Plasma of Rats Fed Diets Containing Rutin or Quercetin1, 1995. <https://academic.oup.com/jn/article-abstract/125/7/1911/4730809>.

- [98] A. Roch, M. Castanier, V. Mardelle, D. Trousse, V. Marin, J.P. Avaro, A.M. Tasei, D. Blayac, P. Michelet, T. Fusai, L. Papazian, Effect of Hypertonic Saline Pre-treatment on Ischemia-Reperfusion Lung Injury in Pig, *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 27 (2008) 1023–1030. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2008.07.004>.
- [99] N. Khan, H. Mukhtar, Multitargeted therapy of cancer by green tea polyphenols, *Cancer Lett*. 269 (2008) 269–280. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.04.014>.
- [100] I. Cantuti-Castelvetri, B. Shukitt-Hale, J.A. Joseph, Neurobehavioral aspects of antioxidants in aging, 2006. www.elsevier.com/locate/ijdevneu.
- [101] M. Al-Mamun, K. Yamaki, T. Masumizu, Y. Nakai, K. Saito, H. Sano, Y. Tamura, Superoxide Anion Radical Scavenging Activities of Herbs and Pastures in Northern Japan Determined Using Electron Spin Resonance Spectrometry, *Int. J. Biol. Sci.* (2007) 3. www.biolsci.org.
- [102] M.A. Peteroy-Kelly, M.R. Marcello, E. Crispo, Z. Buraei, D. Strahs, M. Isaacson, L. Jaworski, D. Lopatto, D. Zuzga, Participation in a Year-Long CURE Embedded into Major Core Genetics and Cellular and Molecular Biology Laboratory Courses Results in Gains in Foundational Biological Concepts and Experimental Design Skills by Novice Undergraduate Researchers, *J Microbiol Biol Educ*. 18 (2017). <https://doi.org/10.1128/jmbe.v18i1.1226>.
- [103] J.E. Gotts, M.A. Matthay, Sepsis: Pathophysiology and clinical management, *BMJ (Online)*. 353 (2016). <https://doi.org/10.1136/bmj.i1585>.
- [104] R. Arivuchudar, THE WELLNESS SECRETS OF A SUPERIOR BEVERAGE: WHITE TEA, Arivuchudar. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 7 (2018). <https://doi.org/10.20959/wjpr20181-10493>.
- [105] J.L. Beaudeau, J. Delattre, P. Therond, D. Bonnefont-Rousselot, A. Legrand, J. Peynet, Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose, *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée*. 21 (2006) 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2006.02.001>.
- [106] B. Vincent, K. De Bock, M. Ramaekers, E. Van Den Eede, M. Van Leemputte, P. Hespel, M.A. Thomis, ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution, *Physiol Genomics*. 32 (2007) 58–63. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00173.2007>.--Actinin-3.
- [107] D.M. Guidot, J.E. Repine, A.D. Kitlowski, S.C. Flores, S.K. Nelson, R.M. Wright, J.M. McCord, Mitochondrial respiration scavenges extramitochondrial superoxide anion via a nonenzymatic mechanism, *Journal of Clinical Investigation*. 96 (1995) 1131–1136. <https://doi.org/10.1172/JCI118100>.
- [108] J. Hadj Salem, I. Chevalot, C. Harscoat-Schiavo, C. Paris, M. Fick, C. Humeau, Biological activities of flavonoids from *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch. and their acylated derivatives, *Food Chem*. 124 (2011) 486–494. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.059>.
- [109] G.P. Littarru, L. Tiano, Bioenergetic and antioxidant properties of coenzyme Q10: Recent developments, in: *Mol Biotechnol*, 2007: pp. 31–37. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0052-y>.
- [110] Z. Yan, C. Li, L. Zhang, Q. Liu, S. Ou, X. Zeng, Enzymatic acylation of anthocyanin isolated from black rice with methyl aromatic acid ester as donor: Stability of the acylated derivatives, *J Agric Food Chem*. 64 (2016) 1137–1143. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05031>.
- [111] O.S. Kwon, J.S. Choi, M.N. Islam, Y.S. Kim, H.P. Kim, Inhibition of 5-lipoxygenase and skin inflammation by the aerial parts of *Artemisia capillaris* and its constituents, *Arch Pharm Res*. 34 (2011) 1561–1569. <https://doi.org/10.1007/s12272-011-0919-0>.

- [112] F.M.F. Roleira, C.L. Varela, S.C. Costa, E.J. Tavares-da-Silva, Phenolic Derivatives From Medicinal Herbs and Plant Extracts: Anticancer Effects and Synthetic Approaches to Modulate Biological Activity, in: *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier B.V., 2018: pp. 115–156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64057-4.00004-1>.
- [113] M.E.M.B. de Araújo, Y.E.M. Franco, T.G. Alberto, M.C.F. Messias, C.W. Leme, A.C.H.F. Sawaya, P. de O. Carvalho, Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by acylated derivatives of flavonoids synthesised enzymatically, *J Enzyme Inhib Med Chem.* 32 (2017) 978–985. <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1347165>.
- [114] Pelletier, E., Campbell, P. G. C. & Denizeau, F. *Écotoxicologie moléculaire Principes fondamentaux et perspectives de développement*. Edition PUQ, p 182., (2004).
- [115] Droillard, M.-J. & Paulin, A. Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94 (3), 1187-1192., (1990).
- [116] Yoshimoto, M., Sakamoto, H., Yoshimoto, N., Kuboi, R. & Nakao, K. Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology* 41, 849–, (2007).
- [117] Nicholls, P. Classical catalase Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 525, 95–101., (2012).
- [118] Bédane, C. *Photodermatologie Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie*. Edition Wolters Kluwer France, p 20., (2008).
- [119] Piquet, M.-A. & Hébuterne, X. *Nutrition en pathologie digestive*. Edition Wolters Kluwer France, p 93., (2007).
- [120] Ames, B. N., Shigenaga, K. & Hagen, T. M. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 90, 7915-7922., (1993).
- [121] Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A. F., Glazer, A. N. & Ames, B. N. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 235 (4792), 1043-1046., (1987).
- [122] Fain, O. Mise au point Carences en vitamine C. *La revue de médecine interne* 25, 872–880., (2004).
- [123] Naidu, K. A. Vitamin C in human health and disease is still a mystery An Overview. *Nutrition Journal* 2 (7), 1-10., (2003).
- [124] Carr, A. Frei, B. Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions *FASEB J.* 13(9), 1007-1024., (1999).
- [125] Greff, M. Post’U FMC-HGE Paris, du 24 au 27 mars 2011. Springer Edition, p 39., (2011).
- [126] Wang, X. & Quinn, P. J. The structure and phase behaviour of α -tocopherol-rich domains in 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylethanolamine. *Biochimie* 88, 1883-1888., (2006).
- [127] Annaházi, A., Mracskó, E., Süle, Z., Karg, E., Penke, B., Bari, F. & Farkas, E. Pre-treatment and post-treatment with α -tocopherol attenuates hippocampal neuronal damage in experimental cerebral hypoperfusion. *Eur*, (2007).
- [128] DUTTA-ROY, A. K. Molecular Mechanism of Cellular Uptake and Intracellular Translocation of α -Tocopherol Role of Tocopherol-binding Proteins. *Food and Chemical Toxicology* 37, 967-971., (1999).

- [129] Lecerf, J. M., Luc, G. & Fruchart, J. C. Vitamine E, antioxydants et athérosclérose, *Rev. Med. Interne* 15, 641-649., (1994).
- [130] Herrera, E. & Barbas, C. Vitamin E action, metabolism and perspectives. *J. Physiol. Biochem.* 57, 43-56., (2001).
- [131] Rodriguez-Amaya, D. B. & Kimura, M. Harvestplus handbook for carotenoid analysis. Technical Monograph Series, p 3., (2004).
- [132] Packer, J. E., Mahood, J. S., Mora-Arellano, V. O., Slater, T. F., Willson, R. L. & Wolfenden, B. S. Free radicals and singlet oxygen scavengers reaction of a peroxy-radical with beta-carotene, diphenyl furan and, (1981).
- [133] Guillaume, J. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés Du labo au terrain. Edition Quae, p 229., (1999).
- [134] Lee, C. Y., Sharma, A., Cheong, J. E. & Nelson, J. L. Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 6326-6330., (2009).
- [135] Bauer, W. J., Badoud, R., Löliger, J. & Eturnaud, A. Science et technologie des aliments Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. Edition PPUR Presses polytechniques, p 212., (2010).
- [136] Duong, T. T. H., Antao, S., Ellis, N. A., Myers, S. J. & Witting, P. K. Supplementation with a synthetic polyphenol limits oxidative stress and enhances neuronal cell viability in response to hypoxia-re-oxygenatio, (2008).
- [137] Lee, C. Y., Sharma, A., Cheong, J. E. & Nelson, J. L. Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19, 6326-6330., (2009).
- [138] Laughton, M. J., Halliwell, B., Evans, P. J., Robin, J. & Houlst, S. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology* 38 (17), 2859-2865., (1989).
- [139] Perron, N. R., García, C. R., Pinzón, J. R., Chaur, M. N. & Brumaghim, J. L. Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *Journal of Inorganic Biochemistry* 105, 745-753, (2011).
- [140] Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I. & Özyurt, D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the C, (2007).
- [141] Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A. & Andrade, B. P. Phenolics From chemistry to biology. *Molecules* 14, 2202-2211., (2009).
- [142] Handique, J. G. & Baruah, J. B. Polyphenolic compounds an overview. *Reactive & Functional Polymers* 52, 163-188., (2002).
- [143] Arts, M. J. T. J., Haenen, G. R. M. M., Voss, H.-P. & Bast, A. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food and Chemical Toxicology* 39, 787-791., (2001).
- [144] S'wieca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Baraniak, B. & Czyż, J. The influence of protein-flavonoid interactions on protein digestibility in vitro and the antioxidant quality of breads enriched with onion skin. *F*, (2013).

- [145] CHEBIL, L. Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* études cinétique, structurale et conformationnelle. Thèse de Doctorat Institut national polytechnique de LORRA, (2006).
- [146] Boudon, C. Traite(c) de nutrition artificielle de l'adulte. Edition Springer, p 238., (2001).
- [147] Andjelkovic', M., Camp, J. V., De Meulenaer, B., Depaemelaere, G., Socaciu, C., Verloo, M. & Verhe, R. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chemistry* 98, 23–31., (2006).
- [148] Pirker, K. F., Severino, J. F., Reichenauer, T. G. & Goodman, B. A. Free radical processes in green tea polyphenols (GTP) investigated by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. *Biotechnology Annual Re*, (2008).
- [149] Bouguerne, B. Conception et synthèse des dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse de Doctorat Univers, (2012).
- [150] Malešev, D. & Kuntić, V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal flavonoid complexing reactions. *J. Serb. Chem. Soc.* 72 (10), 921-939., (2007).
- [151] Perron, N. R. & Brumaghim, J. L. A Review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell. Biochem. Biophys.* 53, 75–100., (2009).
- [152] M. Kosanić, B. Ranković, Antioxidant and antimicrobial properties of some lichens and their constituents, *J Med Food.* 14 (2011) 1624–1630. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0316>.
- [153] I. Gülçin, Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight, *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 11 (2010) 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.07.002>.
- [154] Dai, J. & Mumper, R. J. Plant Phenolics Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propertes. *Molecules* 15(10), 7313-52., (2010).
- [155] C.G. Fraga, Plant polyphenols: How to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions, in: *IUBMB Life*, 2007: pp. 308–315. <https://doi.org/10.1080/15216540701230529>.
- [156] B. Sritularak, A. Tantituvanont, P. Chanvorachote, K. Meksawan, T. Miyamoto, Y. Kohno, K. Likhitwitayawuid, Flavonoids with free radical scavenging activity and nitric oxide inhibitory effect from the stem bark of *Artocarpus gomezianus*, 2010. <http://www.academicjournals.org/JMPR>.
- [157] A.M. González-Paramás, C. Santos-Buelga, M. Dueñas, S. González-Manzano, *Analysis of Flavonoids in Foods and Biological Samples*, 2011.
- [158] I. Ramzan, G.Q. Li, *Phytotherapies: Efficacy, Safety, and Regulation*, 2015.
- [159] K.L. Pickering, M.G.A. Efendy, T.M. Le, A review of recent developments in natural fibre composites and their mechanical performance, *Compos Part A Appl Sci Manuf.* 83 (2016) 98–112. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2015.08.038>.
- [160] J. Nève, *Nutrition et stress oxydant Optimisation of dietary intake of anti-oxidants*, 2002.
- [161] D. Stagos, G.D. Amoutzias, A. Matakos, A. Spyrou, A.M. Tsatsakis, D. Kouretas, Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols, *Food and Chemical Toxicology.* 50 (2012) 2155–2170. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.04.002>.

- [162] H. Bennani, J. Fiet, A. Adlouni, Impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate : étude de l'effet antiprolifératif des polyphénols, *Revue Francophone Des Laboratoires*. 2009 (2009) 23–26. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(09\)70271-0](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(09)70271-0).
- [163] F. Di Domenico, C. Foppoli, R. Coccia, M. Perluigi, Antioxidants in cervical cancer: Chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols, *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 1822 (2012) 737–747. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.10.005>.
- [164] A. Link, F. Balaguer, A. Goel, Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics, *Biochem Pharmacol*. 80 (2010) 1771–1792. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.06.036>.
- [165] F. Visioli, L. Borsani, C. Galli, Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals, 2000. www.elsevier.com/locate/cardiores www.elsevier.nl/locate/cardiores.
- [166] E.E. Mulvihill, M.W. Huff, Antiatherogenic properties of flavonoids: Implications for cardiovascular health, *Canadian Journal of Cardiology*. 26 (2010) 17A-21A. [https://doi.org/10.1016/S0828-282X\(10\)71056-4](https://doi.org/10.1016/S0828-282X(10)71056-4).
- [167] Lenoir, L. (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat Université D'Auvergne., n.d. <https://theses.hal.science/tel-00719693>.
- [168] A. Scalbert, C. Manach, C. Morand, C. Rémésy, L. Jiménez, Dietary polyphenols and the prevention of diseases, *Crit Rev Food Sci Nutr*. 45 (2005) 287–306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>.
- [169] D. Vauzour, A. Rodriguez-Mateos, G. Corona, M.J. Oruna-Concha, J.P.E. Spencer, Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action, *Nutrients*. 2 (2010) 1106–1131. <https://doi.org/10.3390/nu2111106>.
- [170] M.S. Ali-Shtayeh, R.M.R. Yaghmour, Y.R. Faidi, K. Salem, M.A. Al-Nuri, Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area, *J Ethnopharmacol*. 60 (1998) 265–271. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00153-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00153-0).
- [171] M.A. Gougerot-Pocidallo, Y. Roche, M. Fay, A. Perianin, S. Bailly, Oxidative injury amplifies interleukin-1-like activity produced by human monocytes, *Int J Immunopharmacol*. 11 (1989) 961–969. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(89\)90119-7](https://doi.org/10.1016/0192-0561(89)90119-7).
- [172] X.Z.H.T.C.C.F.T.J.W.F.M.T.K.S.M.F.K.T. A Helbling-Leclerc 1, Mutations in the laminin alpha 2-chain gene (LAMA2) cause merosin-deficient congenital muscular dystrophy, *Letter*. (1995).
- [173] F. Leroy-Lechat, D. Wouessidjewe, J.P. Andreux, F. Puisieux, D. Duchêne, Evaluation of the cytotoxicity of cyclodextrins and hydroxypropylated derivatives, *Int J Pharm*. 101 (1994) 97–103. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(94\)90080-9](https://doi.org/10.1016/0378-5173(94)90080-9).
- [174] J.C. Low, W. Donachie, Clinical and serum antibody responses of lambs to infection by *Listeria monocytogenes*, *Res Vet Sci*. 51 (1991) 185–192. [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(91\)90012-D](https://doi.org/10.1016/0034-5288(91)90012-D).
- [175] Y. Schutz, U. Kyle, C. Pichard, PAPER Fat-free mass index and fat mass index percentiles in Caucasians aged 18-98, *Int J Obes*. 26 (2002) 953–960. <https://doi.org/10.1038=sj.ijo.0802037>.

- [176] S. Hamza, Y. Chupeau, Re-evaluation of Conditions for Plant Regeneration and Agrobacterium-*W\epsilon6\axE6* Transformation from Tomato (*Lycopersicon esculentum*), 1993. <http://jxb.oxfordjournals.org/>.
- [177] C. Duval, G. Burdet, M. Perrin, Bargmann structures and Newton-Cartan theory, 1985.
- [178] Corrosion et protection des métaux, AFNOR-CEFRACOR. (1992) 303–352.
- [179] B. P, Evolution des propriétés d'un film inhibiteur de corrosion sous l'influence de la température et des conditions hydrodynamiques caractérisation par techniques électrochimiques, INSA Lyon. (2005) 15–24.
- [180]. Khadraoui A, Extraction et pouvoir de bio-inhibiteur de substances naturelles d'origine végétale vis-à-vis de la corrosion acide de l'acier, Thèse de Doctorat, Université de Blida . (2014).
- [181] A. L.I, 1st International Congress on Metallic Corrosion, Butterworths, London. (1962) 147.
- [182] G. H, Electrochimie physique et analytique, Presse Polytechnique et Universitaires Ramandes. (2001).
- [183] P. J, V. A, B. Y, P, Combrade, Métallurgie – Du minerai au matériau, Cinquième partie La corrosion, Ed. Masson, Paris. (1998).
- [184] K. A, Ammonium quaternaire du platformat synthese et application a l'inhibition de la corrosion d'acier, Memoire de Magister , Universite Saad Dahlab de Blida . (2011).
- [185] Z. F, T. G, M. C, G. V, inhibition of a-C steel in acidic 5% NaCl solutions in the presence of thiosulphatel, Corros Sci. 42 (2000) 505–515.
- [186] H. N, Évaluation de l'efficacité inhibitrice de Na₃PO₄ contre la corrosion des armatures du béton, Apport de l'émission Acoustique Dans La Caractérisation et Le Contrôle de l'anticorrosion. Matériaux, Thèse Doctorat ,INSA de Lyon, France. (2015).
- [187] C. S, Compréhension des mécanismes d'inhibition de la corrosion des armatures mé-talliques des bétons par des molécules d'origine biologique, Thèse de Doctorat ,Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Français. (2015).
- [188] T. G, M.D. Y, M. F, Corrosion Mechanism, (1987) 119.
- [189] S. J.C, The Fundamentals of Corrosion, International Series of Monographs on Materials Science and Technologyl , 2nd Ed. Pergamon International, Oxford. 17 (1975).
- [190] M. N, Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange, Maltaise demi sanguine et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone, Thèse de Doctorat, I.N.A de Tunis et l'Université de Lorraine. (2015).
- [191] R. I.L, Corrosion Inhibitors, McGraw-Hill. (1981) 97–138.
- [192] L. S, L. M, J. Bonnans, F. Bentiss, Patent Wo, 10179 (2002).
- [193] S. E, NACE Corrosion Inhibitors, USA, National Association of Corrosion Engineers. (1973) 28.
- [194] P.M. J, Durabilité et corrosion, Master Science et Technologie Des Matériaux, Pitesti. (2008).
- [195] K. S.J, S. I.S, Exfoliation Corrosion of Aluminum Alloys, ASTM, STP . 516 (1972) 3–16.

- [196] Z. A, P. E, Effects of Tempers on Environmental-Assisted Failure on an Al-Zn-Mg-Cu Alloy, *J Mater Process Technol.* 53 (1995) 491–498.
- [197] T. J.G.N, 5th European Symposium on Corrosion Inhibitors, *Ann. Univ. Ferrara, Italy.* (1980) 453.
- [198] L. D, *Corrosion et Chimie de Surface des Métaux*, 1st Edition, Alden Press, Ox-Ford. (1993) 489.
- [199] H. H, Synthèse, caractérisation et étude du pouvoir inhibiteur de nouvelles molécules bases de Schiff, Thèse Doctorat , Université Ferhat Abbas – Setif-1. (2015).
- [200] B. J.O'M, S. D.A.D, Adsorption of nDecylamine on Solid Metal Electrodes, *Electrochem. Soc.* 11 (1964) 736–743.
- [201] S. Echihi, R. Hsissou, N. Benzbiria, M. Afrokh, M. Boudalia, A. Bellaouchou, A. Guenbour, A. Mohammed, Mohamed. Tabyaoui, Performance of Methanolic Extract of *Artemisia herba alba* as a Potential Green Inhibitor on Corrosion Behavior of Mild Steel in Hydrochloric Acid Solution, *Biointerface Res Appl Chem.* 11 (2021) 14751–14763.
- [202] M. Boudalia, R.M. Fernández-Domene, M. Tabyaoui, A. Bellaouchou, A. Guenbour, J. García-Antón, Green approach to corrosion inhibition of stainless steel in phosphoric acid of *Artemisia herba alba* using plant extract., *Journal of Materials Research and Technology.* (2019).
- [203] A. Aitlaalim, M. Boudalia, F. Ouanji, S. Echihi, A. Guenbour, A. Belleaouchou, M. Tabyaoui, M. Kacimi, Abdelkader. Zarrouk, Essential oil of *brachychiton* as eco-friendly green inhibitor for the corrosion control of mild steel in hydrochloric acid medium, *Der Pharma Chemica.* 8 (2016) 155–165.
- [204] M. Boudalia, A. Guenbour, A. Bellaouchou, Abdelkader. Zarrouk, New eco-friendly corrosion inhibitor: Inhibitive and adsorption action of clay for the corrosion of stainless steel in H₃PO₄ solutions, *Der Pharma Chemica.* (2015) 301–306.
- [205] N. M.H.H, Natural chemicals for disease and insect management. Professorial inaugural lecture series, University of Dar Es Salaam. Colour Print (T) Ltd, Dar Es Salaam. (2002) 1–172.
- [206] A. Laqhaili, A. Hakiki, M. Mossaddak, M. Boudalia, A. Bellaouchou, A. Guenbour, M. El Morhit, B. Hammouti, Effect of *lavandula stoechas* oil on welded material corrosion in 5.5M H₃PO₄ solution, *J Chem Pharm Res.* (2013) 1297–1306.
- [207] R. Adams, Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, 4th Ed.; Allured Publishing Co. Carol Stream, IL, USA. (2007).
- [208] H. VAN DEN DOOL, P. DEC. KRATZ, A GENERALIZATION OF THE RETENTION INDEX SYSTEM INCLUDING LINEAR TEMPERATURE PROGRAMMED GAS-LI&UID PARTITION CHROMATOGRAPHY I-I. VAN DEN DOOL AND I?, 1962.
- [209] D. Lopes-Lutz, D.S. Alviano, C.S. Alviano, P.P. Kolodziejczyk, Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils, *Phytochemistry.* 69 (2008) 1732–1738. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2008.02.014>.
- [210] M. Oyaizu, Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Japanese Journal of Nutrition and Dietetics .* 44(6):307–315 (1986).

- [211] L. Müller, K. ; Fröhlich, V. Böhm, Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (a TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay, *Food Chemistry* . 129:139–148. (2011).
- [212] M. Gulluce, F. Sahin, M. Sokmen, H. Ozer, D. Daferera, A. Sokmen, M. Polissiou, A. Adiguzel, H. Ozkan, Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*, *Food Chem.* 103 (2007) 1449–1456. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.10.061>.
- [213] A. B, Thèse de Doctorat, Université Ibn Toafail, Kenitra, Maroc. (2002).
- [214] B. C.B, F. L.P, C. W.M, The electrochemical behaviour of al-zn-in and a1-zn-hg alloys in aqueous halide solutions, *Corros Sci.* 36 (1994) 85–97.
- [215] D. M, D. F, 5 th Europ. Symp., *Corro. Inh.*, Ferrara. (1970) 81.
- [216] L. D, *Corrosion et Chimie de Surface des Métaux*, 1st Edition, Alden Press, Oxford. 489 (1983).
- [217] B. P, Thèse de Doctorat, INSA, Lyon-France. (2005).
- [218] S. E, *Methods for evaluation and testing of Corrosion Inhibitors*, InEd. By C. C. Nathan, Nace Houston. 28 (1973).
- [219] H. N, S. H. R, *Corrosion*, 5 (1949) 237.
- [220] L. L, These de Doctorat d'état, Université de Tlemcen, Algerie . (2004).
- [221] T. B, *Corrosion et protection des bronzes recouverts de patine étude électrochimique et spectroscopique de la surface d'objets archéologiques et synthèse d'une patine équiva-lente sur un bronze du commerce*, Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6), Université IBN Tofail (Maroc). (2001).
- [222] S. Y, G. A.A, B. E, E. E, Systematic corrosion investigation of various Cu–Sn alloys electrodeposited on mild steel in acidic solution Dependence of alloy composition, *J Alloys Compd.* 485 (2009) 98–103.
- [223] R. K, *Corrosion et protection des bronzes recouverts de patine étude électrochi-mique et spectroscopique de la surface d'objets archéologiques et synthèse d'une patine équivalente sur un bronze du commerce*, Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6) - Université IBN Tofail (Maroc). (2005).
- [224] B. P, *Evolution des propriétés d'un film inhibiteur de corrosion sous l'influence de la température et des conditions hydrodynamiques caractérisation par techniques électrochimiques*, Thèse de Doctorat ,L'Institut National Des Sciences Appliquées de Lyon. (2005).
- [225] L. M, et al, Heterostructured Ni(OH)₂–Co(OH)₂ composites on 3D ordered Ni–Co nanoparticles fabricated on microchannel plates for advanced miniature supercapacitor, *J Alloys Compd.* 589 (2014) 364–371.
- [226] B. B.A, O. Den, B. H.J.M, Transport processes in mixed conducting oxides combining time domain experiments and frequency domain analysis, *Journal of Solid State Electrochemistry.* 8 (2004).
- [227] G. L.M, et all, Electrochemical impedance spectroscopy on porous electrodes, *J Appl Electrochem.* 20 (1990) 677–685.

- [228] B. O.E, Application of the impedance model of de Levie for the characterization of porous electrodes, *Electrochim Acta*. 47 (2002) 2109–2116.
- [229] J. M, Electrochemical studies of the pitting corrosion of tin in citric acid solution containing Cl⁻, *Electrochim Acta*. 53 (2008) 4528–4536.
- [230] G. C, K. M, Contribution of electrochemical impedance spectroscopy to the investigation of the electrochemical kinetics, *Electrochimica Acta* . (1995).
- [231] L. P, T. T.C, L. J.Y, Impedance spectra of the anodic dissolution of mild steel in sulfuric acid, *Corros Sci*. 38 (1996) 1935–1955.
- [232] S. Javed, A. Javaid, S. Nawaz, M.K. Saeed, Z. Mahmood, S.Z. Siddiqui, R. Ahmad, Phytochemistry, GC-MS Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Potential of Essential Oil From Five Citrus Species, *Journal of Agricultural Science*. 6 (2014). <https://doi.org/10.5539/jas.v6n3p201>.
- [233] M.Y.A.A.I.H.A.S.A.M.I.C. GHULAM MUSTAFA KAMALI, Antioxidant potential of peel essential oils of three Pakistani citrus species: Citrus reticulata, Citrus sinensis and Citrus paradisi, *Pak. J. Bot.* (2013).
- [234] Soumaya Bourgou, Fatima Zahra rouhali, Changes of peel essential oil composition of four Tunisian citrus during fruit maturation, *The Scientific World Journal* . (2011).
- [235] M.G., D.M.B., A.R. bbDuccio R.L. Caccioni, Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*, *Int J Food Microbiol.* (1998).
- [236] M.W. Cheong, Z.S. Chong, S.Q. Liu, W. Zhou, P. Curran, B. Yu, Characterisation of calamansi (*Citrus microcarpa*). Part I: Volatiles, aromatic profiles and phenolic acids in the peel, *Food Chem*. 134 (2012) 686–695. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.162>.
- [237] G. Venkateswarlu, Y. Selvaraj, Changes in the peel oil composition of kagzi lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) during ripening, *Journal of Essential Oil Research*. 12 (2000) 50–52. <https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9712040>.
- [238] C.G. Lopresto, A. Meluso, G. Di Sanzo, S. Chakraborty, V. Calabrò, Process-intensified waste valorization and environmentally friendly d-limonene extraction, *EuroMediterr J Environ Integr*. 4 (2019). <https://doi.org/10.1007/s41207-019-0122-0>.
- [239] R. Amorati, M.C. Foti, L. Valgimigli, Antioxidant activity of essential oils, *J Agric Food Chem*. 61 (2013) 10835–10847. <https://doi.org/10.1021/jf403496k>.
- [240] H.S. Choi, H. Sun Song, H. Ukeda, M. Sawamura, Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: Detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, *J Agric Food Chem*. 48 (2000) 4156–4161. <https://doi.org/10.1021/jf000227d>.
- [241] B.B. Shah, A.A. Mehta, In vitro evaluation of antioxidant activity of d-Limonene, *Asian J Pharm Pharmacol*. 4 (2018) 883–887. <https://doi.org/10.31024/ajpp.2018.4.6.25>.
- [242] E. Sarrou, P. Chatzopoulou, K. Dimassi-Theriou, I. Therios, Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece, *Molecules*. 18 (2013) 10639–10647. <https://doi.org/10.3390/molecules180910639>.
- [243] L.G. Riachi, C.A.B. De Maria, Peppermint antioxidants revisited, *Food Chem*. 176 (2015) 72–81. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.12.028>.

- [244] J. Hamuel Doughari, M. Jamila Bazza, Phytochemistry, GC-MS Analysis, Antioxidant and Antibacterial Potentials of Limonene Isolated from Pericarp of *Citrus sinensis*, Int J Microbiol Biotechnol. 5 (2020) 22. <https://doi.org/10.11648/j.ijmb.20200501.14>.
- [245] F.S. Sharopov, M. Wink, W.N. Setzer, Radical Scavenging and Antioxidant Activities of Essential Oil Components-An Experimental and Computational Investigation, Natural Product Communications, 2014.
- [246] R.L. Prior, X. Wu, Diet Antioxidant Capacity: Relationships to Oxidative Stress and Health, Am J Biomed Sci. (2013) 126–139. <https://doi.org/10.5099/aj130200126>.
- [247] W. Deng, K. Liu, S. Cao, J. Sun, B. Zhong, J. Chun, Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation, Molecules. 25 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25010217>.
- [248] D. Trabelsi, A.M. Hamdane, M. Ben Said, M. Abdrrabba, Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils from Flowers, Leaves and Peels of Tunisian Citrus aurantium Against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*, Journal of Essential Oil-Bearing Plants. 19 (2016) 1660–1674. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1141069>.
- [249] G.A. Wu, J. Terol, V. Ibanez, A. López-García, E. Pérez-Román, C. Borredá, C. Domingo, F.R. Tadeo, J. Carbonell-Caballero, R. Alonso, F. Curk, D. Du, P. Ollitrault, M.L. Roose, J. Dopazo, F.G. Gmitter, D.S. Rokhsar, M. Talon, Genomics of the origin and evolution of Citrus, Nature. 554 (2018) 311–316. <https://doi.org/10.1038/nature25447>.
- [250] N. Gursoy, B. Tepe, M. Sokmen, Evaluation of the chemical composition and antioxidant activity of the peel oil of citrus nobilis, Int J Food Prop. 13 (2010) 983–991. <https://doi.org/10.1080/10942910902927136>.
- [251] S.A. Shehata, E.A. Abdeldaym, M.R. Ali, R.M. Mohamed, R.I. Bob, K.F. Abdelgawad, Effect of some citrus essential oils on post-harvest shelf life and physicochemical Quality of Strawberries during Cold Storage, Agronomy. 10 (2020). <https://doi.org/10.3390/agronomy10101466>.
- [252] A.A.C. De Almeida, J.P. Costa, R.B.F. De Carvalho, D.P. De Sousa, R.M. De Freitas, Evaluation of acute toxicity of a natural compound (+)-limonene epoxide and its anxiolytic-like action, Brain Res. 1448 (2012) 56–62. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2012.01.070>.
- [253] A. Nakajima, K. Nemoto, Y. Ohizumi, An evaluation of the genotoxicity and subchronic toxicity of the peel extract of Ponkan cultivar ‘Ohta ponkan’ (*Citrus reticulata* Blanco) that is rich in nobiletin and tangeretin with anti-dementia activity, Regulatory Toxicology and Pharmacology. 114 (2020) 104670. <https://doi.org/10.1016/J.YRTPH.2020.104670>.
- [254] R. Monajemi, S. Oryan, A. Ghannadi, A. Jafarian, Cytotoxic Effects of Essential Oils of Some Iranian Citrus Peels Clinical Reasoning and Problem Solving in Traditional Iranian Medicine View project, 2014. <https://www.researchgate.net/publication/26619497>.
- [255] J.S. Raut, S.M. Karuppayil, A status review on the medicinal properties of essential oils, Ind Crops Prod. 62 (2014) 250–264. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2014.05.055>.
- [256] S. Mahmud, M. Saleem, S. Siddique, R. Ahmed, R. Khanum, Z. Perveen, Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of Citrus acida var. sour lime peel oil, Journal of Saudi Chemical Society. 13 (2009) 195–198. <https://doi.org/10.1016/J.JSCS.2009.03.001>.

- [257] A.R.T. Costa, M.F.Z.J. Amaral, P.M. Martins, J.A.M. Paula, T.S. Fiuza, L.M.F. Tresvenzol, J.R. Paula, M.T.F. Bara, Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos, *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 13 (2011) 240–245. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200018>.
- [258] S. Jafari, M. Samadi, N. Samadi, Antimicrobial Activity of Lime Essential Oil Against Food-borne Pathogens Isolated from Cream-filled Cakes and Pastries Persian Medicine View project Review View project, *Article in International Journal of Biological Chemistry*. (2011). <https://doi.org/10.3923/ijbc.2011>.
- [259] R. Denkova-Kostova, D. Teneva, T. Tomova, B. Goranov, Z. Denkova, V. Shopska, A. Slavchev, Y. Hristova-Ivanova, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*. 76 (2021) 175–185. <https://doi.org/10.1515/znc-2020-0126>.
- [260] J.A. do Evangelho, G. da Silva Dannenberg, B. Biduski, S.L.M. el Halal, D.H. Kringel, M.A. Gularte, A.M. Fiorentini, E. da Rosa Zavareze, Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil, *Carbohydr Polym*. 222 (2019) 114981. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.114981>.
- [261] H.S. Sultana, M. Ali, B.P. Panda, Influence of volatile constituents of fruit peels of *Citrus reticulata* Blanco on clinically isolated pathogenic microorganisms under In-vitro, *Asian Pac J Trop Biomed*. 2 (2012) S1299–S1302. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60404-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60404-3).
- [262] D. Djenane, Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of algerian citrus essential oils and their application in sardina pilchardus, *Foods*. 4 (2015) 208–228. <https://doi.org/10.3390/foods4020208>.
- [263] T.M. Moraes, H. Kushima, F.C. Moleiro, R.C. Santos, L.R. Machado Rocha, M.O. Marques, W. Vilegas, C.A. Hiruma-Lima, Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion, *Chem Biol Interact*. 180 (2009) 499–505. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2009.04.006>.
- [264] K. Zhang, W. Yang, X. Yin, Y. Chen, Y. Liu, J. Le, B. Xu, Amino acids modified konjac glucomannan as green corrosion inhibitors for mild steel in HCl solution, *Carbohydr Polym*. 181 (2018) 191–199. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.069>.
- [265] H. Bendaha, H. Elmsellem, A. Aouniti, M. Mimouni, A. Chetouani, B. Hammouti, Investigation of the Corrosion-Resistant Properties of Citrus Aurantium Essential Oil in 1 M HCl, *Materials Science*. 52 (2016) 123–131. <https://doi.org/10.1007/s11003-016-9934-0>.
- [266] M.K. Bagga, R. Gadi, O.S. Yadav, R. Kumar, R. Chopra, G. Singh, Investigation of phytochemical components and corrosion inhibition property of *Ficus racemosa* stem extract on mild steel in H₂SO₄ medium, *J Environ Chem Eng*. 4 (2016) 4699–4707. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.10.022>.
- [267] X. Li, X. Xie, S. Deng, G. Du, Two phenylpyrimidine derivatives as new corrosion inhibitors for cold rolled steel in hydrochloric acid solution, *Corros Sci*. 87 (2014) 27–39. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2014.05.017>.
- [268] R. Solmaz, Investigation of adsorption and corrosion inhibition of mild steel in hydrochloric acid solution by 5-(4-Dimethylaminobenzylidene)rhodanine, *Corros Sci*. 79 (2014) 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2013.11.001>.

- [269] Z. Bensouda, E.H. El Assiri, M. Sfaira, M. Ebn Touhami, A. Farah, B. Hammouti, Extraction, Characterization and Anticorrosion Potential of an Essential Oil from Orange Zest as Eco-friendly Inhibitor for Mild Steel in Acidic Solution, *J Bio Tribocorros.* 5 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40735-019-0276-y>.
- [270] H. Heydari, M. Talebian, Z. Salarvand, K. Raeissi, M. Bagheri, M.A. Golozar, Comparison of two Schiff bases containing O-methyl and nitro substitutes for corrosion inhibiting of mild steel in 1 M HCl solution, *J Mol Liq.* 254 (2018) 177–187. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.01.112>.
- [271] M. Benahmed, I. Selatnia, N. Djeddi, S. Akkal, H. Laouer, Adsorption and Corrosion Inhibition Properties of Butanolic Extract of *Elaeoselinum thapsioides* and Its Synergistic Effect with *Reutera lutea* (Desf.) Maires (Apiaceae) on A283 carbon Steel in Hydrochloric Acid Solution, *Chemistry Africa.* 3 (2020) 251–261. <https://doi.org/10.1007/s42250-019-00093-8>.
- [272] B.D. Mert, M. Erman Mert, G. Kardaş, B. Yazici, Experimental and theoretical investigation of 3-amino-1,2,4-triazole-5-thiol as a corrosion inhibitor for carbon steel in HCl medium, *Corros Sci.* 53 (2011) 4265–4272. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2011.08.038>.
- [273] A. Biswas, S. Pal, G. Udayabhanu, Experimental and theoretical studies of xanthan gum and its graft co-polymer as corrosion inhibitor for mild steel in 15% HCl, *Appl Surf Sci.* 353 (2015) 173–183. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.06.128>.
- [274] H.L.Y. Sin, A. Abdul Rahim, C.Y. Gan, B. Saad, M.I. Salleh, M. Umeda, *Aquilaria subintergra* leaves extracts as sustainable mild steel corrosion inhibitors in HCl, *Measurement (Lond).* 109 (2017) 334–345. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.05.045>.
- [275] A. Attou, M. Tourabi, A. Benikdes, O. Benali, H.B. Ouici, F. Benhiba, A. Zarrouk, C. Jama, F. Bentiss, Experimental studies and computational exploration on the 2-amino-5-(2-methoxyphenyl)-1,3,4-thiadiazole as novel corrosion inhibitor for mild steel in acidic environment, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 604 (2020) 125320. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2020.125320>.
- [276] F. Bentiss, C. Jama, B. Mernari, H. El Attari, L. El Kadi, M. Lebrini, M. Traisnel, M. Lagrenée, Corrosion control of mild steel using 3,5-bis(4-methoxyphenyl)-4-amino-1,2,4-triazole in normal hydrochloric acid medium, *Corros Sci.* 51 (2009) 1628–1635. <https://doi.org/10.1016/J.CORSCI.2009.04.009>.
- [277] J.B. Jorcin, M.E. Orazem, N. Pébère, B. Tribollet, CPE analysis by local electrochemical impedance spectroscopy, *Electrochim Acta.* 51 (2006) 1473–1479. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2005.02.128>.
- [278] G.J. Brug, A.L.G. van den Eeden, M. Sluyters-Rehbach, J.H. Sluyters, The analysis of electrode impedances complicated by the presence of a constant phase element, *J Electroanal Chem Interfacial Electrochem.* 176 (1984) 275–295. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(84\)80324-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(84)80324-1).
- [279] A. Berrissoul, E. Loukili, N. Mechbal, F. Benhiba, A. Guenbour, B. Dikici, A. Zarrouk, A. Dafali, Anticorrosion effect of a green sustainable inhibitor on mild steel in hydrochloric acid, *J Colloid Interface Sci.* 580 (2020) 740–752. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2020.07.073>.
- [280] M. Elbelghiti, Y. Karzazi, A. Dafali, B. Hammouti, F. Bentiss, I.B. Obot, I. Bahadur, E.E. Ebenso, Experimental, quantum chemical and Monte Carlo simulation studies of 3,5-disubstituted-4-amino-1,2,4-triazoles as corrosion inhibitors on mild steel in acidic medium, *J Mol Liq.* 218 (2016) 281–293. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2016.01.076>.

- [281] A.M. El Defrawy, M. Abdallah, J.H. Al-Fahemi, Electrochemical and theoretical investigation for some pyrazolone derivatives as inhibitors for the corrosion of C-steel in 0.5 M hydrochloric acid, *J Mol Liq.* 288 (2019) 110994. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2019.110994>.
- [282] A. Nahlé, I.I. Abu-Abdoun, I. Abdel-Rahman, Effect of temperature on the corrosion inhibition of trans-4-hydroxy-4'-stilbazole on mild steel in HCl solution, *International Journal of Corrosion.* 2012 (2012). <https://doi.org/10.1155/2012/380329>.
- [283] O.S. J, Inhibitory Action of Nicotiana tabacum Extracts on the Corrosion of Mild Steel in HCl: Adsorption and Thermodynamics Study, 2013. <http://www.sciencepub.net/naturehttp://www.sciencepub.net/nature>.
- [284] M. Lyamine, A. Ali, L. Messaadia, O. Id El Mouden, A. Anejjar, M. Messali, R. Salghi, O. Benali, O. Cherkaoui, A. Lallam, Adsorption and corrosion inhibition of new synthesized Pyridazinium-Based Ionic Liquid on Carbon steel in 0.5 M H₂SO₄ Mouslim Messali Adsorption and corrosion inhibition of new synthesized Pyridazinium-Based Ionic Liquid on Carbon steel in 0.5 M H₂SO₄, *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (2015) 598–606. <https://www.researchgate.net/publication/278684478>.
- [285] A. Popova, E. Sokolova, S. Raicheva, M. Christov, AC and DC study of the temperature effect on mild steel corrosion in acid media in the presence of benzimidazole derivatives, *Corros Sci.* 45 (2003) 33–58. [https://doi.org/10.1016/S0010-938X\(02\)00072-0](https://doi.org/10.1016/S0010-938X(02)00072-0).
- [286] F. Wang, Z. Zhang, S. Wu, J. Jiang, H. Chu, Effect of inhibitor on adsorption behavior and mechanism of micro-zone corrosion on carbon steel, *Materials.* 12 (2019). <https://doi.org/10.3390/ma12121901>.
- [287] A. Zarrouk, B. Hammouti, R. Touzani, S. Al-Deyab, M. Zertoubi, A. Dafali, S. Elkadiri, Comparative Study of New Quinoxaline Derivatives Towards Corrosion of Copper in Nitric Acid, 2011. www.electrochemsci.org.
- [288] H. Bendaha, S. El Kadiri, H. Bendaha, A. Zarrouk, A. Aouniti, B. Hammouti, S. El Kadiri, R. Salghi, R. Touzani, Article in Physical and Chemical News · February, *Phys. Chem. News.* 64 (2012) 95–103. <https://www.researchgate.net/publication/263422004>.
- [289] A. Boujakhrou, I. Hamdani, N. Chahboun, A. Bouyanzer, R. V Santana, A. Zarrouk, Antioxidant activity and corrosion inhibitive behavior of Garcinia cola seeds on mild steel in hydrochloric medium, *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (2015) 3655–3666.
- [290] M. El Azzouzi, K. Azzaoui, I. Warad, B. Hammouti, S. Shityakov, R. Sabbahi, S. Saoiabi, M.H. Youssoufi, N. Akartasse, S. Jodeh, A. Lamhamdi, A. Zarrouk, Moroccan, Mauritania, and senegalese gum Arabic variants as green corrosion inhibitors for mild steel in HCl: Weight loss, electrochemical, AFM and XPS studies, *J Mol Liq.* 347 (2022) 118354. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2021.118354>.
- [291] M. Faustin, A. Maciuk, P. Salvin, C. Roos, M. Lebrini, Corrosion inhibition of C38 steel by alkaloids extract of Geissospermum laeve in 1 M hydrochloric acid: Electrochemical and phytochemical studies, *Corros Sci.* 92 (2015) 287–300. <https://doi.org/10.1016/J.CORSCI.2014.12.005>.
- [292] N. El Hamdani, R. Fdil, M. Tourabi, C. Jama, F. Bentiss, Alkaloids extract of Retama monosperma (L.) Boiss. seeds used as novel eco-friendly inhibitor for carbon steel corrosion in 1 M HCl solution: Electrochemical and surface studies, *Appl Surf Sci.* 357 (2015) 1294–1305. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2015.09.159>.

- [293] D. Li, P. Zhang, X. Guo, X. Zhao, Y. Xu, The inhibition of mild steel corrosion in 0.5 M H₂SO₄ solution by radish leaf extract, *RSC Adv.* 9 (2019) 40997–41009. <https://doi.org/10.1039/c9ra04218k>.
- [294] A. Singh, K.R. Ansari, D.S. Chauhan, M.A. Quraishi, H. Lgaz, I.M. Chung, Comprehensive investigation of steel corrosion inhibition at macro/micro level by ecofriendly green corrosion inhibitor in 15% HCl medium, *J Colloid Interface Sci.* 560 (2020) 225–236. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2019.10.040>.
- [295] M. Gopiraman, P. Sakunthala, D. Kesavan, V. Alexramani, I.S. Kim, N. Sulochana, An investigation of mild carbon steel corrosion inhibition in hydrochloric acid medium by environment friendly green inhibitors, *J Coat Technol Res.* 9 (2012) 15–26. <https://doi.org/10.1007/s11998-011-9374-6>.
- [296] S. Perumal, S. Muthumanickam, A. Elangovan, R. Karthik, R.S. kannan, K.K. Mothilal, Bauhinia tomentosa Leaves Extract as Green Corrosion Inhibitor for Mild Steel in 1M HCl Medium, *J Bio Tribocorros.* 3 (2017). <https://doi.org/10.1007/s40735-017-0072-5>.
- [297] M. Sobhi, Gatifloxacin as corrosion inhibitor for carbon steel in hydrochloric acid solutions, *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces.* 50 (2014) 825–832. <https://doi.org/10.1134/S2070205114060227>.
- [298] A. Salmasifar, M. Edraki, E. Alibakhshi, B. Ramezanzadeh, G. Bahlakeh, Theoretical design coupled with experimental study of the effectiveness of the inhibitive molecules based on Cynara scolymus L extract toward chloride-induced corrosion of steel, *J Mol Liq.* 332 (2021) 115742. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2021.115742>.
- [299] Z. Rouifi, M. Rbaa, F. Benhiba, T. Laabaissi, H. Oudda, B. Lakhrissi, A. Guenbour, I. Warad, A. Zarrouk, Preparation and anti-corrosion activity of novel 8-hydroxyquinoline derivative for carbon steel corrosion in HCl molar: Computational and experimental analyses, *J Mol Liq.* 307 (2020) 112923. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2020.112923>.
- [300] A. Berrissoul, E. Loukili, N. Mechbal, F. Benhiba, A. Guenbour, B. Dikici, A. Zarrouk, A. Dafali, Anticorrosion effect of a green sustainable inhibitor on mild steel in hydrochloric acid, *J Colloid Interface Sci.* 580 (2020) 740–752. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2020.07.073>.
- [301] H. Rahmani, K.I. Alaoui, M. EL Azzouzi, F. Benhiba, A. El Hallaoui, Z. Rais, M. Taleb, A. Saady, B. Labriti, A. Aouniti, A. Zarrouk, Corrosion assesement of mild steel in acid environment using novel triazole derivative as a anti-corrosion agent: A combined experimental and quantum chemical study, *Chemical Data Collections.* 24 (2019) 100302. <https://doi.org/10.1016/J.CDC.2019.100302>.
- [302] L.O. Olasunkanmi, I.B. Obot, M.M. Kabanda, E.E. Ebenso, Some quinoxalin-6-yl derivatives as corrosion inhibitors for mild steel in hydrochloric acid: Experimental and theoretical studies, *Journal of Physical Chemistry C.* 119 (2015) 16004–16019. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b03285>.
- [303] M. Murmu, S.K. Saha, N.C. Murmu, P. Banerjee, Effect of stereochemical conformation into the corrosion inhibitive behaviour of double azomethine based Schiff bases on mild steel surface in 1 mol L⁻¹ HCl medium: An experimental, density functional theory and molecular dynamics simulation study, *Corros Sci.* 146 (2019) 134–151. <https://doi.org/10.1016/J.CORSCI.2018.10.002>.
- [304] F. El-Hajjaji, E. Ech-chihbi, N. Rezki, F. Benhiba, M. Taleb, D.S. Chauhan, M.A. Quraishi, Electrochemical and theoretical insights on the adsorption and corrosion inhibition of novel

- pyridinium-derived ionic liquids for mild steel in 1 M HCl, *J Mol Liq.* 314 (2020) 113737. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2020.113737>.
- [305] J. Saranya, F. Benhiba, N. Anusuya, R. Subbiah, A. Zarrouk, S. Chitra, Experimental and computational approaches on the pyran derivatives for acid corrosion, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 603 (2020) 125231. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2020.125231>.
- [306] V. Mehmeti, F.I. Podvorica, Experimental and theoretical studies on corrosion inhibition of niobium and tantalum surfaces by carboxylated graphene oxide, *Materials.* 11 (2018). <https://doi.org/10.3390/ma11060893>.
- [307] G.L.F. Mendonça, S.N. Costa, V.N. Freire, P.N.S. Casciano, A.N. Correia, P. de Lima-Neto, Understanding the corrosion inhibition of carbon steel and copper in sulphuric acid medium by amino acids using electrochemical techniques allied to molecular modelling methods, *Corros Sci.* 115 (2017) 41–55. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2016.11.012>.
- [308] M.Y. Díaz-Cárdenas, J. Uruchurtu Chavarín, M.G. Valladares Cisneros, S. Lagunas-Rivera, E.C. Menchaca Campos, Evidence of metal–organic coordination between Fe and flavonoid chrysin in a green anticorrosion film, *Heat Treatment and Surface Engineering.* 4 (2022) 35–42. <https://doi.org/10.1080/25787616.2022.2055727>.
- [309] I. Lukovits, E. Kálmán, F. Zucchi, *Corrosion Inhibitors-Correlation Between Electronic Structure and Efficiency*, 1999.
- [310] B. Zhang, C. He, C. Wang, P. Sun, F. Li, Y. Lin, Synergistic corrosion inhibition of environment-friendly inhibitors on the corrosion of carbon steel in soft water, *Corros Sci.* 94 (2015) 6–20. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2014.11.035>.

Liste des figures

Figure I-1: Modes d'extraction des huiles essentielles.....	6
Figure I-2: Isoprène (2méthylbuta-1,3-diène)	9
Figure I-3: différenciations des terpènes par le nombre d'unités liées.....	9
Figure I-4: Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes	10
Figure I-5. Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane	11
Figure I-6: Condensation de type Claisen pour obtenir l'acétoacétylCoA	13
Figure I-7: Aldolisation pour obtenir l'acide mévalonique.	13
Figure I-8: Déshydratation suivi de décarboxylation	14
Figure I-9: Formation de pyrophosphate de géranyle (PPG).....	14
Figure I-10: Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie de l'acide mévalonique	15
Figure I-11: Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie du méthylérythritol phosphate .	16
Figure I-12: Exemple de biosynthèse des dérivés du phénylpropane	17
Figure I-13: Structure d'unité de base des polyphénols	21
Figure I-14: Hydroxylation d'acide benzoïque	22
Figure I-15: Hydroxylation d'acide cinnamique	22
Figure I-16: Structure du resvératrol	23
Figure I-17: Formation d'une coumarine.....	23
Figure I-18: Structure des lignanes.	24
Figure I-19: Structure de la lignine.....	24
Figure I-20: Structure de base des flavonoïdes	25
Figure I-21: Schéma illustrant la biosynthèse des flavonoïdes.....	26
Figure I-22: Structure de quelques flavonoïdes.....	28
Figure I-23: Exemples de quelques Flavonoïdes	29
Figure I-24: Structure de quelques anthocyanes et leur identification dans la nature.....	30
Figure I-25: Structure des isoflavonoïdes	31
Figure I-26: Structure de base des chalcones et des aurones	32
Figure I-27: Structure des quelques chalcones.....	33
Figure I-28: Structure d'une aurone	33
Figure I-29: Schéma de biosynthèse des xanthones.....	34
Figure I-30: Structure de quelques tannins hydrolysables Brevilagine	35
Figure I-31: Structure de quelques tannins condensés	36
Figure I-32: Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.....	39
Figure I-33: Principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène	40
Figure I-34: Représentation schématique de la chaîne respiratoire mitochondriale.....	42
Figure I-35: Dommages causée par les ERO au niveau de l'ADN.....	43
Figure I-36: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène	44
Figure I-37 : Acide ascorbique.....	45
Figure I-38: Structures des tocophérols.....	46
Figure I-39: Deux exemples des structures des caroténoïdes.	47
Figure I-40 : Structure chimique d'un polyphénol de synthèse. (3,3',5,5'-Tetra-t-butyl-biphenyl-4,4'-diol).	47
Figure I-41: Structure chimique d'un polyphénol de synthèse (dendrimère de syringaldehyde).	48
Figure I-42: Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène. Le radical formé devient moins dangereux.	48
Figure I- 43: Les structures du : (A) catéchol. (B) gallol.	51

Figure I-44: La géométrie octaédrique de coordination prévue du complexe général du fer-polyphénol. Gallols, R=OH ; catéchols, R=H. La Coordination	51
Figure I-45: Coordination de Fe ⁺² par des polyphénols suivant la réaction de transfert d'électron en présence de l'oxygène conduisant à la génération du Complexe Fe ⁺³ polyphénol.....	52
Figure I-46: Coordination de Fe ⁺³ par des polyphénols conduisant à la réduction du fer et à la formation d'une semiquinone, et la réduction de Fe ⁺³ forme une espèce de quinone et Fe ⁺² . R= H, OH.	52
Figure I-47: Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.	53
Figure 48 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée	54
Figure I-49: Aspect morphologique des micro-organismes étudiés (Pieri et Kirkiacharian, 1992) (a) : S. aureus ; (b) : E. coli ; (c) : P. aeruginosa	60
Figure I-50: Mécanisme d'action des antibiotiques.....	62
Figure I-51: Les différents processus se déroulant à l'interface lors de la corrosion d'un métal en milieu liquide [179]	64
Figure I-52: Schéma descriptif de l'adsorption physique.....	65
Figure I-53: Diagramme de Pourbaix à 25°C.....	67
Figure I-54: Caractéristiques et qualités des inhibiteurs	70
Figure I-55: Formation des couches barrières (A) cathodiques et (B) anodiques interférant avec les réactions électrochimiques, dans le cas d'une étude en milieu acide	74
Figure I-56: Diagrammes d'Evans montrant le déplacement du potentiel de corrosion dû à la présence d'un inhibiteur de corrosion.....	75
Figure I-57: Représentation schématique des modes d'adsorption de molécules organiques inhibitrices sur une surface métallique [197]	76
Figure I-58: Adsorption d'un inhibiteur organique sur une surface métallique en milieu aqueux	78
Figure II- 1: Arbre de citrus reticulata	83
Figure II- 2: Fruits de citrus reticulata	84
Figure II- 3: Les régions d'étude de notre travail	84
Figure II- 4: Déchets de citrus reticulata (écorces et feuilles).....	85
Figure II- 5: Dispositif d'hydrodistillation (extraction des HEs des écorces et des feuilles de citrus)...	86
Figure II- 6: Huile essentielle obtenue après 4h de distillation	86
Figure II- 7: Préparation des HE avant la soumission à GC-MS.....	87
Figure II- 8: Colonne capillaire ZB-5MS	88
Figure II- 9: GC-MS shimadzu QP-2010 SE	88
Figure II- 10: Paramètres de l'appareil GC-MS Shimadzu pour l'analyse des HEs de citrus	89
Figure II- 11: Dispositif de Pekin Elmer Clarus™ GC-680.....	89
Figure II- 12: Bain à ultrasons.....	90
Figure II- 13: Broyage de la matière sèche.....	91
Figure II- 14: Préparation de la matière fine pour une extraction au bain à ultrasons	91
Figure II- 15: Extraction par sonication	92
Figure II- 16: Produit obtenu après sonification	92
Figure II- 17: Büchi rotavapor r-114.....	93
Figure II- 18: Extrait méthanolique visqueux	93
Figure II- 19: Exemples d'extraction liquide-liquide	94
Figure II- 20: Extraction de l'héspéridine par fractionnement liquide-liquide	95
Figure II- 21: HPLC analytique JASCO	96

Figure II- 22: Colonne Kinetex 5 um XB-C18 100 A 250*4.6 mm	96
Figure II- 23: Méthode d'analyse de l'hespéridine sur HPLC-PDA	97
Figure II- 24: Spectromètre à résonance magnétique nucléaire (RMN) Bruker 700 MHz.....	98
Figure II- 25: Spectrométrie de masse haute résolution	99
Figure II- 26: CombiFlashfi Rf + Lumen (TELEDYNE Isco, Lincoln, NE, USA)	100
Figure II- 27: HPLC intégré Armen Spot Prep II (Gilson, Middleton, WI, USA).....	101
Figure II- 28: Réactif de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) - Sigma-Aldrich	102
Figure II- 29: Incubateur à co2 et incubateur à agitation	103
Figure II- 30: Microplaque stérile.....	103
Figure II- 32: Représentation schématique linéaire et semi-logarithmique des courbes courant-tension caractéristique d'une cinétique d'activation pure.....	107
Figure II- 33: Schéma d'une fonction de transfert [220].....	107
Figure II- 34: Perturbation d'un système électrochimique non linéaire à Ecorr avec I0=0.	108
Figure II- 35: Exemple de diagrammes de Bode.	109
Figure III- 1: Spectre GC-MC de Citrus Reticulata.	116
Figure III- 2: Familles chimiques Pourcentage d'huile essentielle.	117
Figure III- 3: Structures chimiques des principaux composés de Citrus Reticulata.	117
Figure III- 4: Analyse des fractions obtenues par HPLC-PDA	118
Figure III- 5: HPLC-PDA de la fraction chloroforme de citrus reticulata)	119
Figure III- 6: Chromatogramme HPLC de la fraction chloroforme de citrus reticulata	120
Figure III- 7: Spectre UV des composés a et b de citrus reticulata	120
Figure III- 8: CCM de la fraction CHCl3 avec différents systèmes d'élution.....	121
Figure III- 9: Préparation de la matière sèche avant soumission au flash chromatographie	121
Figure III- 10: Chargement de la matière sèche sur la cartouche	122
Figure III- 11: Système d'élution de la fraction CHCl3 sur flash chromatographie	122
Figure III- 12: Systlée d'élution sur prep-HPLC.....	123
Figure III- 13: Différence entre colonne préparative et colonne semi-préparative.....	123
Figure III- 14: Les 5 PMFs isolés de la fraction CHCl3 de citrus.....	124
Figure III- 15: HPLC-PDA de la fraction chloroforme, du composé a et du composé b	124
Figure III- 16: Structures des 2 principaux PMFs de citrus reticulata	124
Figure III- 17: Comparaison de la teneur des PMFs entre 3 régions producteurs de citrus reticulata au Maroc.....	126
Figure III- 18: Chromatogramme HPLC de la fraction chloroforme des écorces et des feuilles de citrus reticulata	127
Figure III- 19: Activité de piégeage des radicaux diphenyl-1-picarylhydrazyl (DPPH) de l'huile essentielle.	128
Figure III- 20: Pouvoir antioxydant réducteur ferrique de l'huile essentielle.....	129
Figure III- 21: Test de piégeage ABTS de l'huile essentielle.	130
Figure III- 22: Schéma de la transformation visée	133
Figure III- 23: Matières utilisées pour la première étape	134
Figure III- 24: Neutralisation de l'acide par l'addition de NaOH	134
Figure III- 25: Extraction et concentration de l'hesperetine	135
Figure III- 26: PhenoFluor Mix + Toluène 99.8%	135
Figure III- 27: Paramètre de purification déterminé par HPLC-PDA	136
Figure III- 28: HPLC-PDA de la réaction de fluoration	137

Figure IV- 1: OCP de l'électrode de travail en acier doux dans 1 M HCl à 298 K sans inhibiteur et avec la concentration optimale.....	141
Figure IV- 2: Courbes PDP de HE et PMF en utilisant différentes concentrations.....	142
Figure IV- 3: Courbes de Nyquist de MS avec et sans la présence de différentes concentrations de citrus reticulata.	144
Figure IV- 4: Courbes de Bode et phase de MS avec et sans la présence de différentes concentrations de citrus reticulata.	144
Figure IV- 5: Modèle de circuit équivalent essayé au cours de cette étude pour s'adapter à l'interface métal/solution	145
Figure IV- 6: Tracés de polarisation de l'acier doux dans 1 M HCl avec et sans citrus reticulata à différentes températures.....	147
Figure IV- 7: Graphiques d'Arrhenius de MS dans 1 M HCl avec et sans HE.....	149
Figure IV- 8: Transition des tracés d'Arrhenius de MS dans 1M HCl avec et sans PMFs	149
Figure IV- 9 : Graphiques d'adsorption de Langmuir de l'HE sur la surface de MS dans une solution de HCl 1 M à 298 K.	153
Figure IV- 10: Graphiques d'adsorption de PMFs sur la surface de MS dans une solution de HCl 1 M à 298 K.	153
Figure IV- 11: Spectres UV avec et sans l'intervention de citrus reticulata dans une solution contenant de l'acier doux.	155
Figure IV- 12: (a) Sans la présence de l'inhibiteur Citrus reticulata et (b) Avec la présence de l'inhibiteur Citrus reticulata.	156
Figure IV- 13: a) Résultats EDS sans la présence de citrus reticulata et (b) Résultats EDS avec la présence de citrus reticulata.	157
Figure IV- 14: Structure optimisée et distributions de densité électronique FMO.	159
Figure IV- 15: Fonctions de Fukui (a) et répartitions MEP (b) sur la structure du d-limonène.....	160
Figure IV- 16: Aspects de l'adsorption du d-Limonène sur le fer atomique.	161
Figure IV- 17: RDF du d-Limonène sur le fer.	162
Figure IV- 18: Structures optimisées montrant les surfaces HOMO et LUMO des composés d'heptaméthoxyflavone et de nobiletine.	163
Figure IV- 19: Illustration schématique du mécanisme d'adsorption proposé pour la molécule de HMF à la surface de l'acier.....	165

Liste des tableaux

Tableau III- 1: Composition chimique de Citrus Reticulata.....	116
Tableau III- 2 : Comparaison entre la concentration inhibitrice semi-maximale de l'huile essentielle et des principaux composés.....	128
Tableau III- 3 : IC50 (mg/mL) des différents tests antioxydants testés.	130
Tableau III- 4: Pourcentage de piégeage des différents tests antioxydants testés.	130
Tableau III- 5: Activités antibactériennes de l'huile essentielle de citrus reticulata contre 4 souches.	132
Tableau IV- 1: Données de perte de poids de l'acier doux dans une solution de HCl 1 M en l'absence et en présence d'HE à différentes concentrations.	139
Tableau IV- 2: Paramètres de la méthode de polarisation potentiodynamique	142
Tableau IV- 3 : Paramètres de la méthode de spectroscopie d'impédance électrochimique.	146
Tableau IV- 4: Paramètres de polarisation pour l'acier doux dans 1 M HCl avec citrus reticulata à différentes températures.....	148
Tableau IV- 5: Les valeurs des paramètres d'activation pour MS dans 1 M HCl avec et sans présence de 900 ppm de citrus reticulata.....	150
Tableau IV- 6: Les paramètres thermodynamiques pour la corrosion de l'acier doux dans 1 M HCl.	153
Tableau IV- 7: Paramètres de réactivité chimique décrivant le système électronique du d-limonène.	159
Tableau IV- 8: Sites d'indices de Fukui de d-limonène.	160
Tableau IV- 9: Paramètres calculés à partir de l'analyse des orbitales frontières pour les molécules de nobiletine et d'heptaméthoxyflavone.	164

Annexes

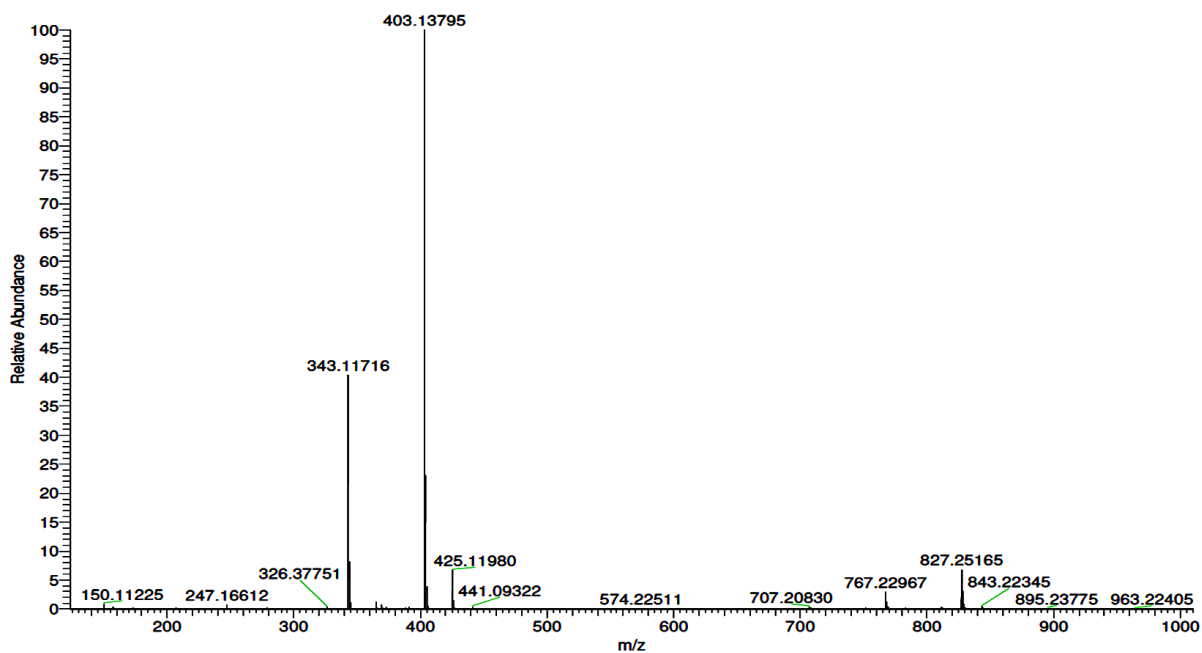


Figure 1: Spectre MS de Nobiletin

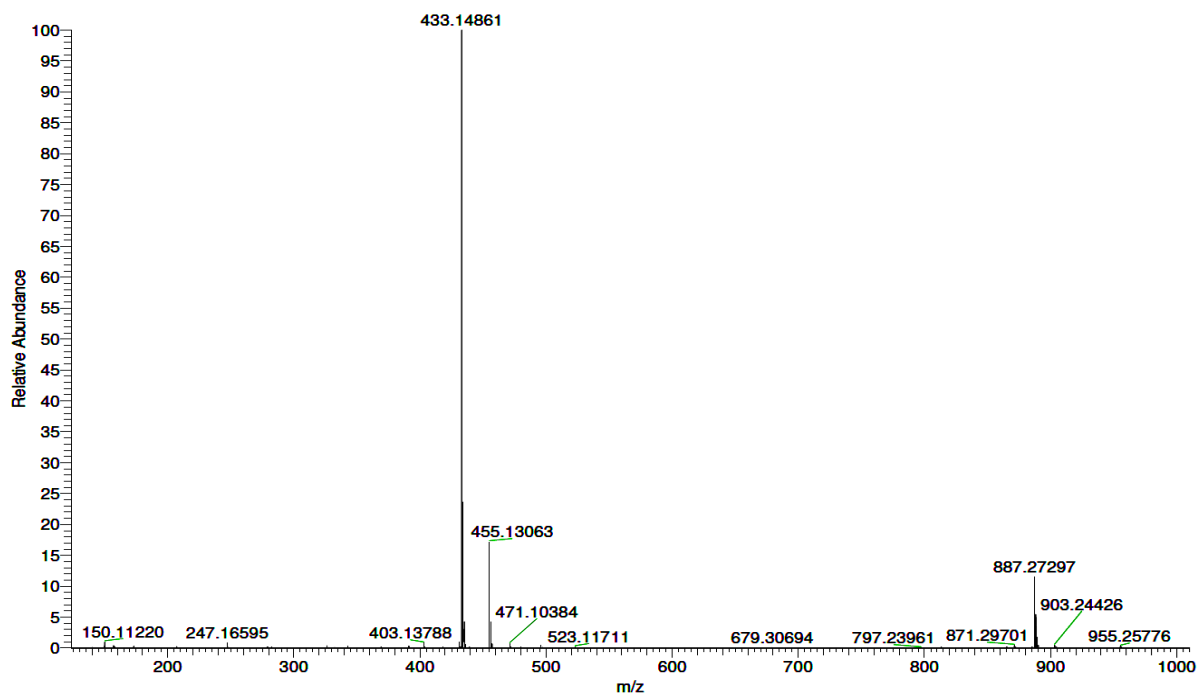
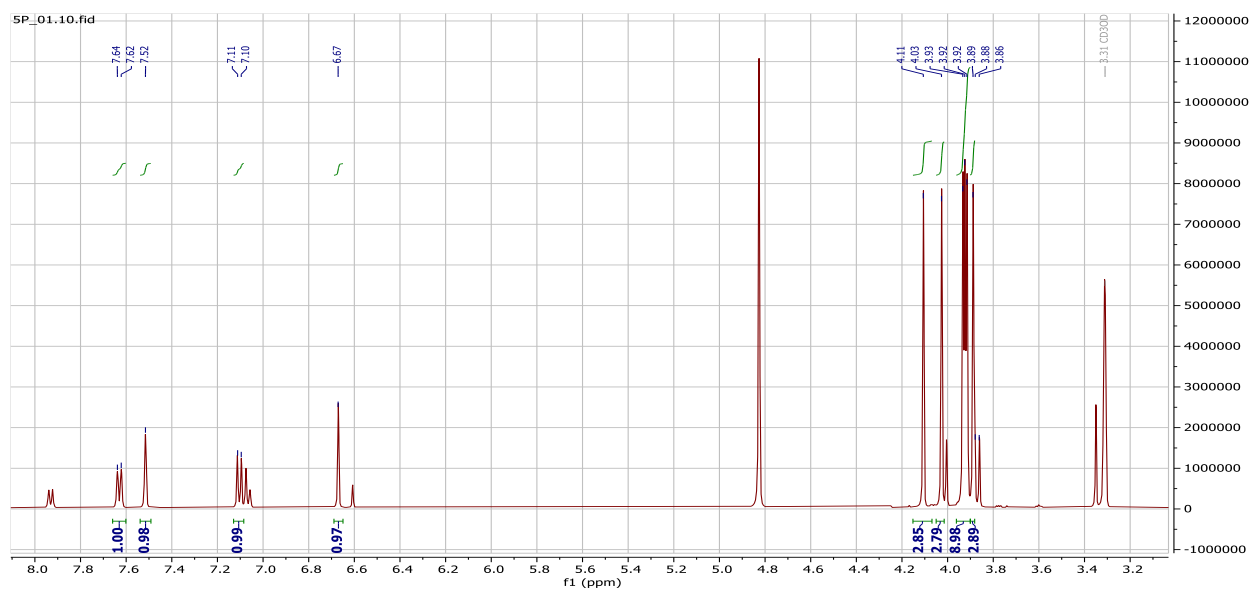
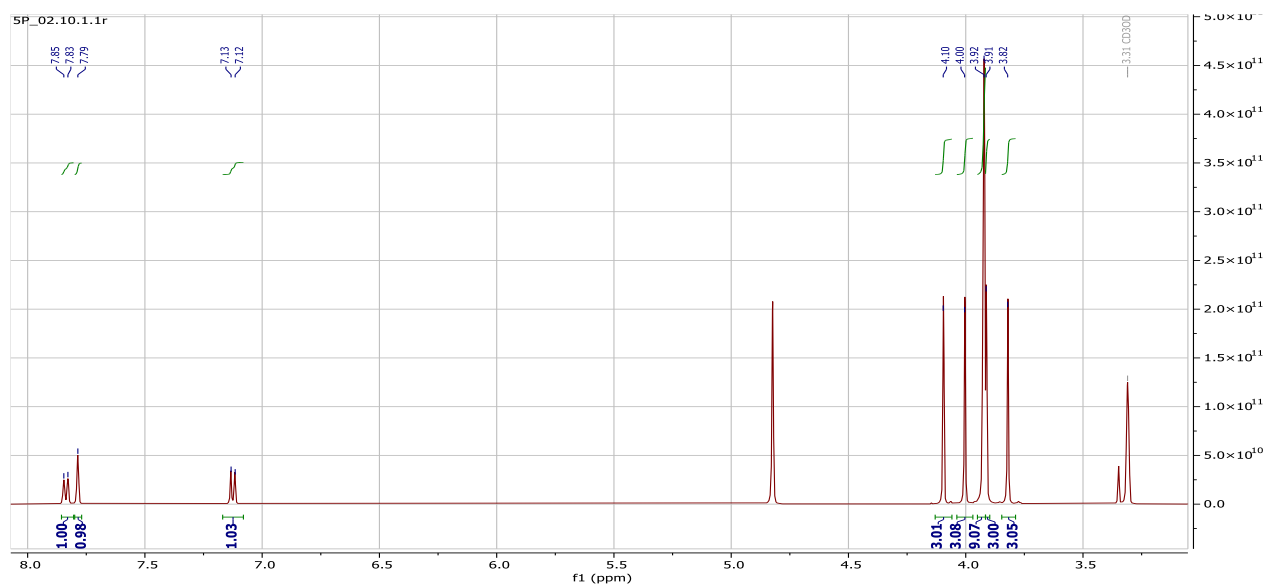
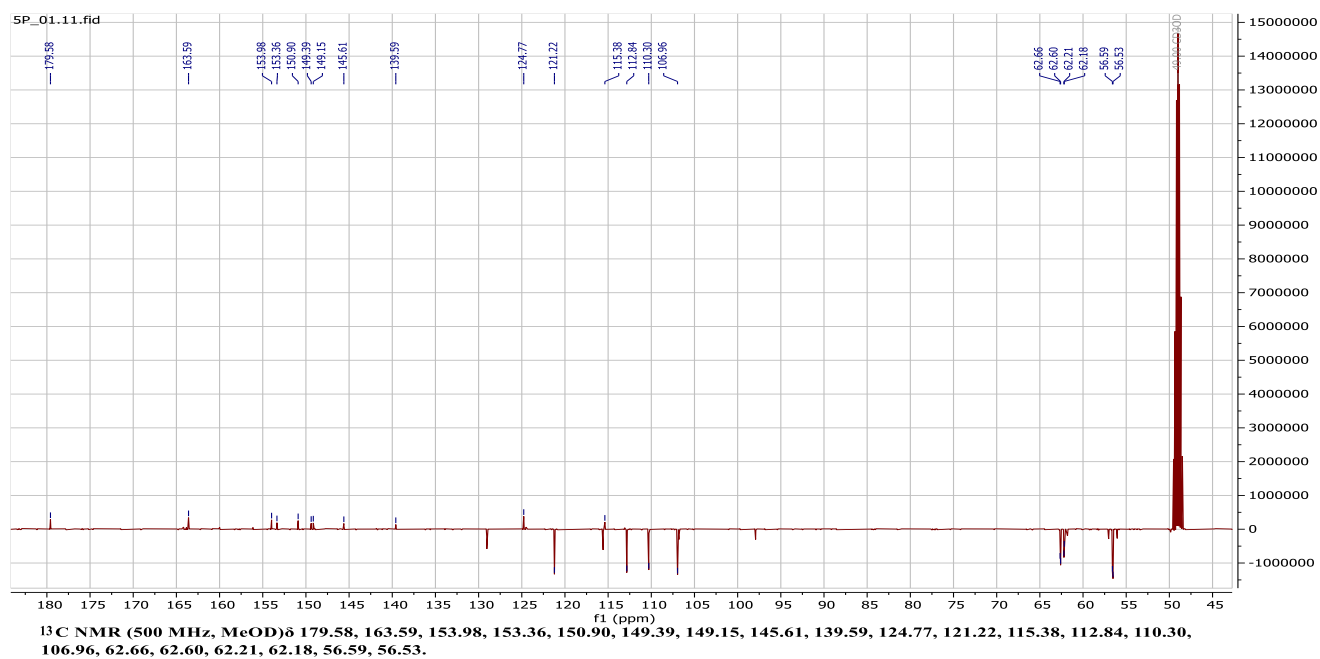
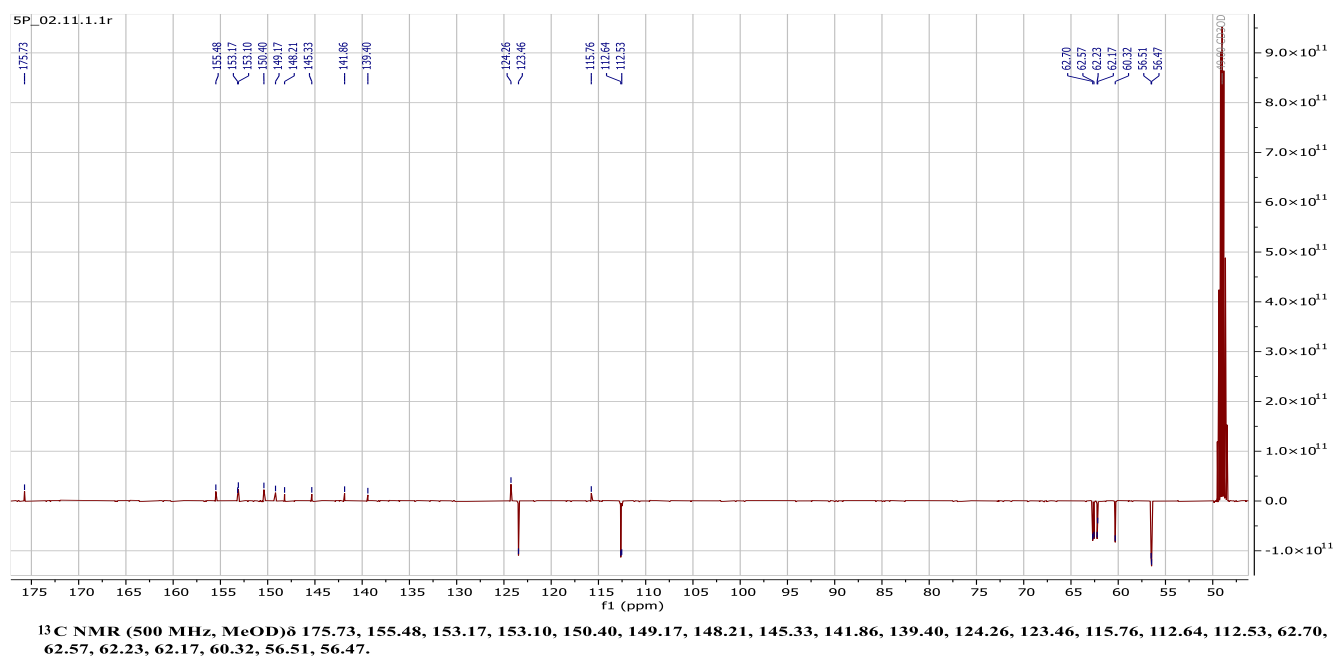


Figure 2: Spectre MS de Heptamethoxyflavone

Figure 3: Spectre RMN(^1H) de NobiletinFigure 4: Spectre RMN(^1H) de Heptamethoxyflavone

Figure 5: Spectre RMN(^{13}C) de NobiletinFigure 6: Spectre RMN(^{13}C) de Heptamethoxyflavone