



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
ET DES SCIENCES DE LA MATIERE
Département Sciences de la Matière

Mémoire de Magister

Pour l'obtention du Titre de Magister en Chimie

Option Chimie Organique et Physicochimie Moléculaire

Presentée par : Mme MOULAY Yamina

Thème

**Investigation Phytochimique de l'*Acacia arabica*
Aux propriétés antioxydantes et inhibitrices**

Soutenu le: 16 / 10 / 2012 devant le jury composé de :

Mr DENDOUGUI Hocine
Mr YOUSFI Mohamed
Mr HADJADJ Mohamed
Mr. SAIDI Mokhtar
Mme GHIABA Zineb

Professeur UKMO
Professeur UATL
Maître de conférences UKMO
Professeur Université Ouargla
Maître Assistante (A)

Président
Examinateur
Examinateur
Encadreur
Co-Encadreur

2011-2012

Dédicaces

A Allah, le tout puissant pour m'avoir donné la force nécessaire et le courage pour mener à bien ce travail. Nous te prions de nous aider davantage à percer dans la recherche du savoir.

A ma grand-mère pour l'affection qu'elle m'a donnée depuis mon enfance.

A mes parents, en témoignage de ma gratitude pour leur écoute, leur soutien et leurs encouragements dans les moments difficiles, sans vous rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour.

A mes filles Israa et Heba pour la joie que vous avez apportée dans ma vie.

A mes sœurs et frères.

A mes amis notamment Rachida, Amina et Karima, merci pour vos encouragements.

Remerciements

Ce travail a été effectué sous la direction de **Mr SAIDI Mokhtar** professeur à l'université Kasdi Merbah Ouargla, je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour son encadrement de qualité et pour m'avoir accordé sa confiance.

A ma co-encadreur **Mme GHIABA Zineb** maître assistante à l'université Kasdi Merbah Ouargla, j'adresse mes plus vifs remerciements pour son aide, sa gentillesse au quotidien, et compréhension, tous ses encouragements, merci pour votre amitié.

J'exprime mes sincères remerciements à **Mr DENDOUGUI Hocine** professeur à l'université Kasdi Merbah Ouargla, pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse.

J'adresse mes vifs remerciements à **Mr YOUSFI Mohamed** professeur à l'université Amar Tlidji Laghouat pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Je tiens également à remercier **Mr HADJADJ Mohamed** maître de conférences à l'université Kasdi Merbah Ouargla, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie du jury.

Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance à **Melle DAKMOUCHE Messaouda** et **Mr BOUKOUADA Mustapha** au sein des laboratoires de l'électrochimie et de la valorisation et promotion des ressources sahariennes VPRS, pour leur aide et compréhension.

Finalement, je remercie toutes les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Abstract

In the present study on the barks and seeds of *Acacia arabica* (L.) DEL. The total phenolic and flavonoid contents of the hydroacetic and hydromethanolic extracts was determined by Folin–Ciocalteu method and the antioxidant activity of the extracts was assayed through some in vitro chemical and electrochemical models such as antioxidant capacity by Ferric reducing assay of plasma, Phosphate Molybdates assay and radical scavenging activity using (DPPH) method. For the electrochemical method, we used cyclic voltammetry to evaluate the antioxidant effects of our extracts on the $O_2^{\cdot-}$ in DMF solution, TBA PF_6 , and we investigated their inhibition effects on the corrosion of mild steel XC52 in aqueous hydrochloric acid solution by potentiodynamic polarization techniques and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The results obtained show that the barks extracts are richer in total phenolic contents than the seeds ones with values of 275.75mg/g and 259.28mg/g for hydroacetic and hydromethanolic extracts respectively. Though all the extracts exhibited reducing activity by FRAP and PM, the extracts of bark found to be registered highest activity and more important to that of Gallic acid. Like reducing power activity, the similar line of dose dependent trend has also been maintained in the DPPH radical scavenging activity. This might be due to the presence of high molecular compounds which are responsible of those effects. Results of cyclic voltammetry show a good antioxidant activity for the hydromethanolic extract compared to the ascorbic acid. Finally the results obtained by potentiodynamic polarization techniques and electrochemical impedance spectroscopy show that the extracts of the plant could serve as an effective inhibitors for the corrosion of mild steel in hydrochloric acid solution media.

Keywords: *Acacia arabica*, Total phenolics, Antioxidant activity, FRAP, PM, DPPH, cyclic voltammetry, polarization, EIS, acid inhibition.

Résumé

Dans cette étude portée sur les cosses et grains de l'*Acacia arabica*, les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits hydroacétoniques et hydrométhanoliques sont déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu, et leur activité antioxydante a été évaluée à travers des tests chimiques tels que les tests FRAP, PM et le test DPPH. Pour les méthodes électrochimiques on a utilisé la voltamétrie cyclique pour étudier l'activité antioxydante de nos extraits vis-à-vis l' $O_2^{\bullet-}$ dans une solution de DMF, TBA PF_6 , et on a investigué leur activité inhibitrice de la corrosion de l'acier XC52 dans un milieu d'acide chlorhydrique par les méthodes de polarisation potentiodynamique et l'impédance électrochimique (EIS). Les résultats obtenus montrent que les extraits des cosses de l'*Acacia arabica* sont plus riches en phénols totaux que ceux des graines, avec des valeurs de 275.75mg/g et 259.28mg/g pour les extraits hydroacétoniques et hydrométhanoliques respectivement. Parmi les extraits connus pour leurs activités réductrices élevées par les tests de FRAP et PM, les extraits des cosses ont montré une activité plus importante par rapport à celle de l'acide gallique. La même chose pour le test de DPPH, la dépendance de l'activité antioxydante avec les teneurs en phénols totaux, est peut être due à la présence de molécules d'importantes masses moléculaires et qui sont responsables de ces effets. Les résultats de la voltamétrie cyclique montrent une bonne activité antioxydante pour l'extrait hydrométhanolique des cosses plus importante à celle de l'acide ascorbique. Finalement, les résultats obtenus par les méthodes de polarisation potentiodynamique et l'impédance électrochimique (EIS), indiquent que les extraits des cosses peuvent servir comme des inhibiteurs actifs contre la corrosion de l'acier XC52 dans un milieu d'acide chlorhydrique.

Mots clés: *Acacia arabica*, phénols totaux, activité antioxydante, FRAP, PM, DPPH, voltammétrie cyclique, courbes de polarisation, EIS, inhibition.

:

تتضمن الدراسة الحالية *Acacia arabica* التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات لمستخلصات النتبة في وسطين أسيتون- / ميثانول-ماء وفق طريقة Folin-Ciocalteu , وتقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال طرق كيميائية وكهروكيميائية يتعلق الأمر باختبارات DPPH , PM , FRAP , والفولتامترية الحلقية، أما دراسة الفعالية التثبيطية لهذه المستخلصات ضد تآكل الفولاذ XC52 فقد تمت وفق الطريقتين الكهروكيميائيتين لمنحنيات الاستقطابية والممانعة الكهروكيميائية. أظهرت النتائج المتحصل عليها، احتواء مستخلصات القرون على كميات عالية من الفينولات مقارنة بمستخلصات البذور، كما أظهرت نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بمختلف الطرق فعالية عالية لمستخلصات القرون مقارنة بحمضي الغاليك و الأسكوربيك. أخيرا بالنسبة لنتائج دراسة الفعالية التثبيطية ضد التآكل، بينت هذه التجارب امكانية استعمال هذه المستخلصات

XC52

Acacia arabica ، الفينولات الكلية، الفعالية المضادة للأكسدة، FRAP ، PM ، DPPH :

فولتامترية الحلقية، المنحنيات الاستقطابية ، الممانعة الكهروكيميائية.

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des schémas	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Partie I. Synthèse Bibliographique.....	3
Chapitre I. Stress Oxydatif et Activité Antioxydante	4
I-1-Stress oxydatif	5
I-1-1-Définition d'un radical libre.....	5
I-1-2-Définition des espèces réactives oxygénées.....	5
I-1-3-Nature et sources cellulaires des EOR.....	6
I-1-4-Définition du stress oxydatif.....	7
I-1-5-Implications pathologiques du stress oxydatif.....	7
I-2-L'activité antioxydante.....	8
I-2-1-Définition d'un antioxydant.....	8
I-2-2-Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	9
I-2-3-Différents types d'antioxydants.....	10
I-2-3-1-Selon leur action.....	10
I-2-3-2-Selon leur source.....	11
I-2-4-Sources naturelles des antioxydants exogènes.....	17
I-2-5-Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	18
Chapitre II. Plantes Médicinales.....	21
II-1-Généralité sur les plantes médicinales.....	22
II-1-1-Plantes médicinales et grandes civilisations.....	22
II-1-2-Définition de la Phytothérapie.....	24
II-1-3-Définition d'une plante médicinale.....	24
II-1-4-Définition d'un principe actif.....	24
II-1-5-Chiffres de l'OMS.....	24
II-1-6-Principales substances curatives dans une plante médicinale.....	25
II-1-7-Culture et récolte des plantes médicinales.....	26
II-1-8- Intérêts des plantes médicinales.....	27
II-1-9-Avantages et inconvénients de la phytothérapie.....	27
II-2-Etude Botanique de l' <i>Acacia arabica</i>	30
II-2-1-Systématique de la plante.....	30
II-2-2-Origine et répartition géographique.....	31
II-2-3-Description botanique.....	31
II-2-4-Croissance et développement.....	33
II-2-5-Propriétés de la plante.....	34
II-2-6-Intérêts de la plante.....	35
II-2-7-Quelques recettes de la thérapie traditionnelle indienne.....	37
Chapitre III. Les polyphénols.....	38
III-1-Présentation générale sur les polyphénols.....	39
III-1-1-Classification des polyphénols.....	40
III-1-1-1-Polyphénols monomériques.....	42

III-1-1-2-Polyphénols sous forme de polymères.....	49
III-2-Propriétés chimiques des polyphénols.....	50
III-2-1Nucléophilie.....	51
III-2-2-Propriétés réductrices.....	51
III-2-3-Polarisabilité.....	52
III-2-4-Liaison hydrogène.....	53
III-2-5-Acidité.....	53
III-3-Stabilité des polyphénols.....	54
III-4-Rôle des polyphénols dans les plantes.....	54
III-5-Importance nutritionnelle des polyphénols.....	55
III-5-1-Les polyphénols comme antioxydants.....	55
III-5-1-1-Inhibition enzymatique.....	55
III-5-1-2-Chélation des métaux.....	57
III-5-1-3-Piégeage des radicaux libres.....	59
III-6-Propriétés thérapeutiques des polyphénols.....	61
III-6-1-Etudes épidémiologiques et propriétés biologiques in vitro.....	61
III-6-2-Effet anti-allergique.....	62
III-6-3-Effet anti-inflammatoire.....	62
III-6-4-Effet anti-ulcère.....	63
III-6-5-Effet anti-cancer.....	63
III-6-6-Autres activités biologiques.....	63
III-7-Propriétés pro-oxydantes des polyphénols.....	64
Chapitre IV. Corrosion, Inhibiteurs et Méthodes électrochimiques.....	66
IV-1-Phénomène de la corrosion.....	67
IV-1-1-Définition de la corrosion.....	67
IV-1-2-Interface électrolyte-solide.....	67
IV-1-3-Types de la corrosion.....	68
IV-1-4-Formes de la corrosion.....	69
IV-2-Lutte contre la corrosion par utilisation des inhibiteurs.....	72
IV-2-1-Définition d'un inhibiteur.....	72
IV-2-2-Propriétés et classes d'inhibiteurs.....	73
IV-3-Méthodes électrochimiques.....	76
IV-3-1-Courbes de polarisation.....	76
Détermination de la densité du courant de corrosion.....	77
Représentation de Tafel.....	78
IV-3-2-Spectroscopie d'impédance électrochimique.....	80
Principe.....	80
Interprétation des diagrammes de Nyquist.....	82
IV-3-3-Voltamétrie cyclique.....	86
Principe.....	86
Avantages de la voltamétrie cyclique.....	89
Partie II. Partie Expérimentale.....	90
Chapitre V. Matériel et Méthodes.....	91
V-1-Matériel.....	92
V-1-1-Matériel et équipement.....	92
V-1-2-Matériel végétal.....	93
V-2-Méthodes.....	93
V-2-1-Extraction et analyse quantitative.....	94
V-2-1-1-Extraction des composés phénoliques.....	94
V-2-1-2-Analyse quantitative de composés phénoliques.....	97

a- Dosage des phénols totaux.....	97
b- Dosage des flavonoïdes.....	97
V-2-2- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques.....	98
V-2-2-1- Tests chimiques.....	98
a- Test du pouvoir réducteur des composés phénoliques.....	98
b- Test de Molybdates phosphates.....	99
c- Test du DPPH.....	100
V-2-2-2- Tests électrochimiques.....	101
a- Méthode de la voltamétrie cyclique.....	101
b- Méthode d'extrapolation des droites de Tafel.....	104
c- Méthode d'impédance électrochimique.....	105
Chapitre VI . Résultats et Discussion.....	106
V-2-1-Résultats de l'analyse quantitative.....	107
Taux des phénols totaux.....	107
Taux des flavonoïdes.....	108
V-2-2- Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques.....	110
V-2-2-1- Tests chimiques.....	110
a- Test du pouvoir réducteur des composés phénoliques.....	110
b- Test de Molybdates phosphates.....	114
c- Test du DPPH.....	119
V-2-2-2- Tests électrochimiques.....	122
a- Méthode de la voltamétrie cyclique.....	122
b- Méthode d'extrapolation des droites de Tafel.....	131
c- Méthode d'impédance électrochimique.....	136
Conclusion	140
Références Bibliographiques.....	144
Annexe.....	154

Liste des Tableaux

Tableau I-1. Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques.

Tableau I-2. Les principales affections liées au stress oxydatif.

Tableau I-3. Les sources alimentaires des principaux antioxydants.

Tableau III-1. Principales classes de composés phénoliques.

Tableau VI-1. Teneurs en phénols totaux dans les extraits.

Tableau VI-2. Teneurs en flavonoïdes dans les extraits.

Tableau VI-3. Les valeurs d'AEAC des différents extraits phénoliques étudiés (test de RPA).

Tableau VI-4. Les valeurs du pouvoir antioxydant des différents extraits phénoliques étudiés (Test de molybdate phosphate).

Tableau VI-5. Valeurs de IC50 pour les différents extraits phénoliques étudiés (Test de DPPH).

Tableau VI-7. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Acétone) à différentes concentrations. (Droites de Tafel)

Tableau VI-8. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Méthanol) à différentes concentrations. (Droites de Tafel)

Tableau VI-9. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Acétone) à différentes concentrations (Méthode de l'impédance).

Tableau VI-10. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Méthanol) à différentes concentrations (Méthode de l'impédance).

Liste des Figures

Figure I-1. Formation des Espèces Oxygénées Réactives (EOR)

Figure I-2. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants

Figure II-1. Répartition géographique de l'acacia arabica.

Figure II-2. L'arbre de l'acacia arabica.

Figure II-3. Feuilles, penes et fleurs de l'acacia arabica.

Figure II-4. Gousses de l'acacia arabica.

Figure IV-1. Représentation schématique d'une courbe densité de courant – potentiel (Coordonnées semi logarithmiques) et des droites de Tafel.

Figure IV-2. Schéma de fonctionnement de la SIE représentant la perturbation sinusoïdale en potentiel et sa réponse en courant.

Figure IV-3. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, dans le cas d'un processus de transfert de charge et circuit électrique équivalent.

Figure IV-4. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique d'une électrode de surface hétérogène et circuit électrique équivalent.

Figure VI-5. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, dans le cas où la diffusion à travers une couche infinie est le processus limitant la corrosion et circuit électrique équivalent.

Figure VI-6. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, d'une électrode poreuse et circuit électrique équivalent.

Figure IV-7. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, d'une espèce adsorbée à la surface d'une électrode et schéma électrique équivalent.

Figure IV-8. Evolution du potentiel en fonction du temps en voltammétrie cyclique.

Figure IV-9. Aspect général d'un voltampérogramme.

Figure IV-10. Voltamogrammes pour des systèmes : réversible (A), quasi réversible (B) et (C) et totalement irréversible (D).

Figure V-1. Gousses et graines de l'acacia arabica.

Figure V-2. Voltamogramme de l'électrolyte support.

Figure V-3. Voltamogramme de réduction de l'O₂.

Figure VI-1. Courbe d'étalonnage de l'Acide gallique.

Figure VI-2. Courbe d'étalonnage de la Rutine.

Figure VI-3. Comparaison entre les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits étudiés.

Figure VI-4. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vit C).

Figure VI-5. Courbes représentantes du pouvoir réducteur des extraits phénoliques.

Figure VI-6. Variation des valeurs d'AEAC en fonction de la teneur en phénols totaux des extraits étudiés. (RPA)

Figure VI-7. Variation des valeurs d'AEAC en fonction de la teneur en flavonoïdes des extraits étudiés. (RPA)

Figure VI-8. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vit C).

Figure VI-9. Courbes représentant le pouvoir réducteur des extraits phénoliques (Test de PM).

Figure VI-10. Variation des valeurs de pouvoir réducteur en fonction de la teneur en phénols totaux des extraits étudiés. (Test de PM)

Figure VI-11. Variation des valeurs de pouvoir réducteur en fonction de la teneur en flavonoïdes des extraits étudiés. (Test de PM)

Figure VI-12. Tracé des valeurs d'AEAC (RPA) en fonction des valeurs d'AEAC (PM).

Figure VI-13. Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques (Test du DPPH).

Figure VI-14. Classement croissant des extraits phénoliques selon leur IC₅₀. (Test de DPPH)

Figure VI-15. Corrélation entre les valeurs d'IC₅₀ (DPPH) des extraits phénoliques et : les teneurs en phénols totaux, teneurs en flavonoïdes et les valeurs d'AEAC (RPA et PM).

Figure VI-16. Voltamogrammes de réduction de l'O₂ en présence de différentes concentrations de l'extrait C(Acétone).

Figure VI-17. Voltamogrammes de réduction de l'O₂ en présence de différentes concentrations de l'extrait C(Méthanol).

Figure VI-18. Voltamogrammes de réduction de l'O₂ en présence de différentes concentrations de l'extrait G(Méthanol).

Figure VI-19. Voltamogrammes de réduction de l'O₂ en présence de différentes concentrations de l'extrait G(Méthanol).

Figure VI-20. Le rapport ($I_{p_{as}}/I_{p_{a0}}$) en fonction de la concentration des extraits et de l'acide ascorbique.

Figure VI-21. L'inhibition I% en fonction de la concentration des extraits phénolique et de l'acide ascorbique.

Figure VI-22. Classement croissant des extraits phénoliques étudiés selon leur IC₅₀. (Méthode de la voltamétrie cyclique).

Figure VI-23. Corrélation entre les IC₅₀ (Voltamétrie cyclique) et les teneurs en phénols Totaux, flavonoïdes, les AEAC (tests RPA et PM) et les IC₅₀ (test DPPH).

Figure VI-24. Les courbes de polarisation à différentes concentrations de C(Acétone).

Figure VI-25. Les courbes de polarisation à différentes concentrations de C(Méthanol).

Figure VI-26. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Acétone). (Courbes de Tafel)

Figure VI-27. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Méthanol). (Courbes de Tafel)

Figure VI-28. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Acétone).

Figure VI-29. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Méthanol).

Figures VI-30. Digrammes de Nyquist à différentes concentrations de C(Acétone).

Figures VI-31. Digrammes de Nyquist à différentes concentrations de C(Méthanol).

Figure VI-32. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Acétone). (Méthode de l'impédance)

Figure VI-33. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Méthanol). (Méthode de l'impédance)

Figure VI-34. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Acétone). (Méthode de l'impédance)

Figure VI-35. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Méthanol). (Méthode de l'impédance)

Liste des Schémas

Schéma I-1. Structure du glutathion (GSH).

Schéma I-2. Structure de l'acide urique.

Schéma I-3. Structure de la vitamine E (ou α -tocophérol) (T-OH).

Schéma I-4. Formation d'hydroperoxyde (AGPI-OOH).

Schéma I-5. Structure de la vitamine C (ou l'acide ascorbique).

Schéma I-6. Relation entre les vitamines E et C.

Schéma I-7. Structure du β -carotène.

Schéma I-8. Structure du radical-cation ABTS⁺.

Schéma I-9. Structure de la Crocine.

Schéma III-1. Exemples d'acides phénoliques.

Schéma III-2. Structure de base des flavonoïdes

Schéma III-3. Biosynthèse des flavonoïdes.

Schéma III-4. Structures chimiques des flavones et des flavonols.

Schéma III-5. Structures chimiques des flavanones et flavanonols

Schéma III-6. Structures chimiques des flavan-3-ols et flavan-3,4-diols

Schéma III-7. Structures chimiques des anthocyanes

Schéma III-8. Structures chimiques des chalcones et aures

Schéma III-9. Structures chimiques de quelques tanins

Schéma III-10. Formes mésomères du phénol

Schéma III-11. Oxydation mono-électronique d'un phénol et formes mésomères du radical aryloxy formé.

Schéma III-12. Effet hydrophobe.

Schéma III-13. Relation structure - activité des flavonoïdes sur l'inhibition de la xanthine oxydase (les valeurs sont les IC50)

Schéma III-14. Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Mn⁺).

Schéma III-15. Piégeage des EOR par les flavonoïdes

Schéma III-16. Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.

Schéma III-17. Mécanisme de formation d'espèces réactives par l'acide gallique, métabolite du propylgallate.

Schéma IV-1. Réaction d'oxydoréduction et transport du courant dans une chaîne électrochimique.

Schéma IV-2. Principe général de la spectroscopie d'impédance électrochimique.

Schéma V-1. Représentation schématique des étapes de l'étude réalisée.

Schéma V-2. Extraction des composés phénoliques.

Liste des abréviations

ATP: Adénosine-5'-triphosphate.

AMP: Adénosine mono phosphate.

AEAC : Capacité antioxydante en équivalent d'acide ascorbique.

ppm: partie par million.

FRAP: Essai de la réduction du fer du plasma.

PM: Phosphate Molybdates.

DPPH: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle

Vit C: Vitamine C.

d: la densité.

mV: millivolt

DMF : diméthylformamide

TBA: Tétrabutyle Ammonium.

λ_{\max} : longueur d'onde

μl: microlitre

I_{pa} : densité de courant anodique

I_{pc} : densité de courant cathodique

I%: pourcentage d'inhibition

IC₅₀: la concentration minimale de l'extrait (antioxydant) qui inhibe 50% du radical libre.

IP_{a0} : densité du courant anodique de l'électrolyte support

IP_{as} : densité du courant anodique après ajout de substrat.

V_{0corr} : vitesse de corrosion sans addition de l'inhibiteur.

V_{corr} : vitesse de corrosion avec addition de l'inhibiteur.

E_{corr} : potentiel de la corrosion

R_p : la résistance de polarisation.

R_t : la résistance au transfert de charges.

I_{corr} : densité du courant de corrosion.

B_a : le coefficient anodique de Tafel.

B_c : le coefficient cathodique de Tafel.

θ: recouvrement de la surface.

C_{dl} : capacité de la double couche sans addition de l'inhibiteur.

C'_{dl} : capacité de la double couche avec addition de l'inhibiteur.

EOR : espèces oxygénées réactives.

ROS : reactive oxygen species.

LDL : low-density lipoproteins.

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

SOD : superoxyde dismutase.

TEAC : trolox equivalent antioxidant capacity.

ABTS : 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid.

Tris : tri-hydroxyméthyl amino-méthane.

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Bien qu'une grande partie du XX^{ème} siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines.

L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. La sélection de la plante *Acacia arabica* s'est fondée sur son intérêt pharmaceutique dans la région de Tamanrasset, où elle est connue pour ses remèdes contre plusieurs maladies telles que : les saignements de la gencive, les irritations de la gorge, l'eczéma, la conjonctivite,...etc. elle est aussi utilisée pour ses propriétés antiseptiques et antifongiques.

Le but de cette étude consiste à renforcer la connaissance phytochimique des extraits de la plante d'*Acacia arabica* à savoir : les phénols totaux et les flavonoïdes, et à mettre en évidence leurs activités antioxydantes et inhibitrices de la corrosion, en vue de leur utilisation ultérieure dans le domaine pharmaceutique ou industriel.

Ce travail sera donc réparti en deux parties : la première est consacrée à la recherche bibliographique, elle est constituée de quatre chapitres : dont les connaissances de base sur le stress oxydatif, ses complications pathologiques et les systèmes de défenses antioxydants, endogènes et exogènes seront abordés dans le premier chapitre. On apportera dans le deuxième chapitre un abrégé de l'histoire de l'utilisation des plantes médicinales au cours des siècles, et aussi une étude botanique sur l'*Acacia arabica*. Le troisième chapitre élucidera la composition, la biosynthèse, la classification des polyphénols ainsi que leurs propriétés antioxydantes. Dans le quatrième chapitre seront définis le phénomène de la corrosion, les inhibiteurs et leur classement et quelques connaissances de bases sur les méthodes électrochimiques utilisées dans ce travail.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier (5^{ème} chapitre) présentera les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, à savoir :

- Extraction et quantification des composés phénoliques des cosses et graines de *l'Acacia arabica* par macération douce dans deux systèmes de solvants.
- Evaluation de l'activité antioxydante de ces extraits par différentes méthodes chimiques et électrochimiques (tests de : FRAP, PM, DPPH, voltamétrie cyclique).
- Evaluation de l'activité inhibitrice de la corrosion de l'acier XC52 dans un milieu acide par deux méthodes électrochimiques : l'extrapolation des droites de Tafel et l'impédance électrochimiques.

En fin le sixième chapitre discutera les résultats obtenus dans cette étude.

Nous rapportons aussi une étude comparative sur la propriété antioxydante des différents extraits obtenus afin de choisir les composés les plus efficaces.

Partie I

Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Stress Oxydatif

et

Activit Antioxydante

I-1-Le Stress Oxydatif :

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines. Qu'en est-il exactement ? Est-ce une mode ou une réalité, et dans ce cas, pouvons-nous trouver de nouvelles armes médicamenteuses pour lutter contre ce phénomène ?

I-1-1-Définition des radicaux libres :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, contenant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non apparié(s) sur leurs couches externes [1]. Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique. Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical [2].

Du fait de leur caractère très électrophile, les espèces radicalaires vont tenter de rapprocher leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron [1]. L'espèce agressée devient à son tour radicalaire initiant de cette façon un processus de réaction en chaîne [2] qui se caractérise par trois étapes ; (i) initiation, (ii) propagation et (iii) terminaison provoquant enfin une perturbation de la cellule vivante.

I-1-2-Définition des espèces oxygénées réactives :

L'appellation espèces oxygénées réactives (EOR) inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc....) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde d'azote [3, 4]. (Tableau I-1).

Nom	Symbole
Espèces Radicalaires	
Anion superoxyde	O_2^-
Radical hydroxyle	OH
Monoxyde d'azote	NO
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	HOCl
Oxygène singulet	1O_2
Peroxynitrite	ONOO ⁻

Tableau I-1. Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (D'après Bartosz, 2003) [3]

L'instabilité des EOR rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques. Leurs constantes de vitesse réactionnelle varient selon leurs natures, elles sont très élevées et peuvent aller de 10^5 à $10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}$. La durée de vie des EOR est extrêmement très courte de la nano à la milli seconde [1].

En effet, la toxicité des EOR n'est pas nécessairement corrélée avec leur réactivité, dans plusieurs cas des espèces peu réactives peuvent être à l'origine d'une grande toxicité en raison de leur demie vie longue qui leur permet de se diffuser et gagner des locations sensibles où elles peuvent interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production [5].

I-1-3-Nature et sources cellulaires des EOR

Les EOR se forment de façon parasitaire dans toutes les réactions biochimiques comportant le transfert d'électrons ou la participation de l'oxygène. Divers types cellulaires et tissus donnent naissance aux EOR par des réactions enzymatiques ou par auto-oxydation au cours de leur métabolisme normale et parfois en réponse à un stimuli spécifique. Les différents processus de formation des radicaux libres sont schématisés dans la figure I-1.

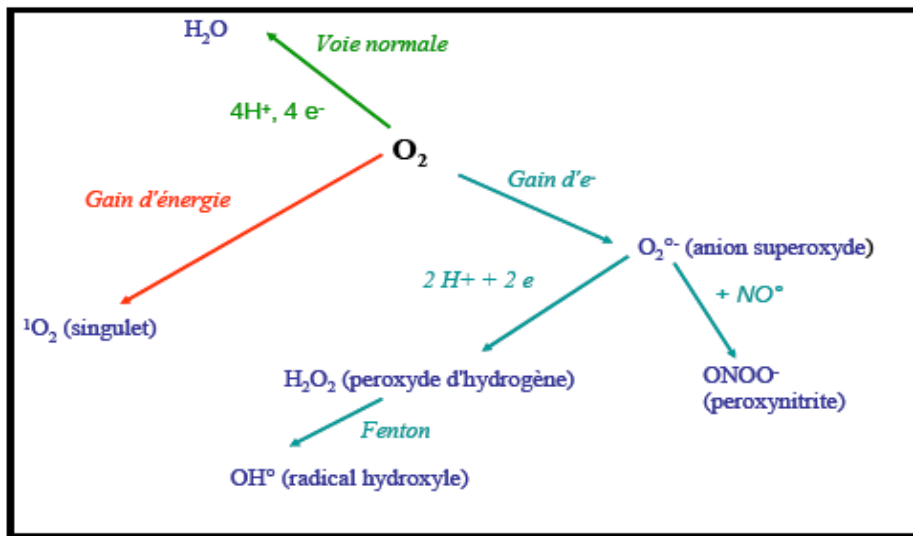


Figure I-1. Formation des Espèces Oxygénées Réactives (EOR)

I-1-4-Définition du stress oxydatif :

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défenses antioxydantes, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes [6].

I-1-5-Implications pathologiques du stress oxydatif :

Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine de phénomènes du stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution est maintenant largement démontré [7]. En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes [8] allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète (Tableau I-2). Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement [1, 6, 9, 10].

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés [11].

Pathologie	Références
Lésions de reperfusion post-ischémique	(Zweier et Talukder, 2006) [12]
Maladies auto-immunes	(Halliwell et guetteridge, 1999) [13]
Arthrite rhumatoïde	(Ahsan et <i>al.</i> , 2003) [14]
Maladies inflammatoires	(Densiov et Afanas'ev, 2005) [15]
Athérosclérose	(Harrison et al, 2003) [16]
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	(Sorg, 2004) [6]
Emphysème	(Lechuer-Michel et <i>al.</i> , 2001) [1]
Diabète sucré	(Pal Yu, 1994) [17]
Certains cancers	(Valko et <i>al.</i> , 2007) [10]
Anémie drépanocytaire	(Martinez-Cayuela, 1995) [9]

Tableau I-2. Les principales affections liées au stress oxydatif.

I-2-L'activité antioxydante :

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie et le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé.

I-2-1-Définition d'un antioxydant :

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [18]. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (Figure I-2)

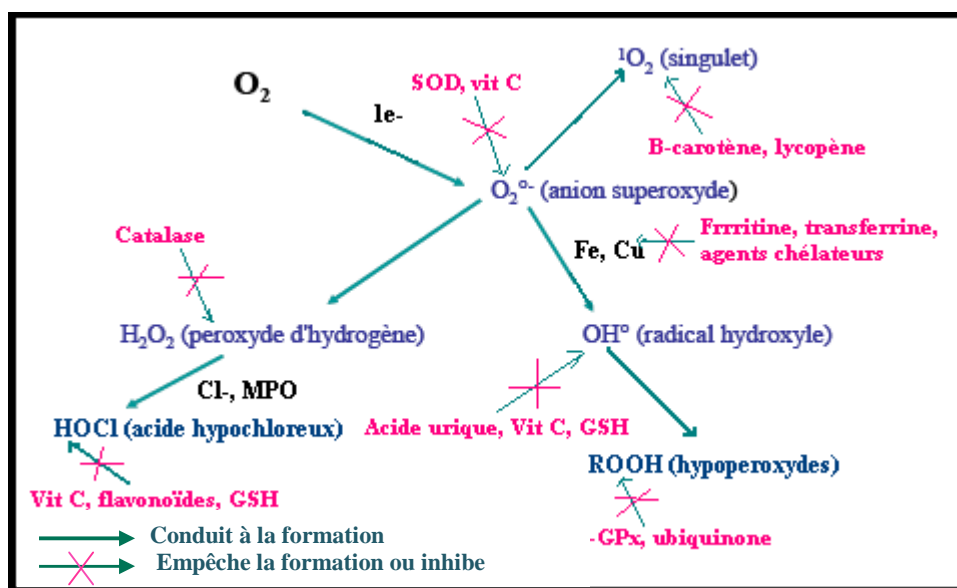


Figure I-2. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants [8].

I-2-2-Mécanisme d'action d'un antioxydant:

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire.

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur [19].

I-2-3-Différents types d'antioxydants:

Les antioxydants peuvent être classés de deux façons :

I-2-3-1- Selon leur action :**Antioxydants de type I :**

Il s'agit de substances capables d'interrompre la chaîne radicalaire en cédant un radical d'hydrogène (H) à un radical libre lipidique présent.



AH : antioxydant et A : radical de l'antioxydant.

Les radicaux A qui se forment sont relativement stables et ne possèdent pas d'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides. Ils subissent une réaction d'arrêt aboutissant à la formation des produits non radicalaires [20].

Antioxydants de type II :

Les antioxydants de cette catégorie sont les composés qui agissent en empêchant ou en diminuant la formation des radicaux libres. Les plus utilisés sont des agents complexant les ions métalliques réduisant l'effet prooxydant des ions, c'est le cas de l'acide phosphorique, citrique et les ascorbates. Ils agissent en stabilisant la forme bivalente du métal dont l'action catalysante est plus faible que celle de la forme trivalente.

Antioxydants de type III :

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante, en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière.

I-2-3-2-Selon leur source :

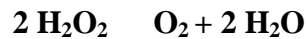
Selon leur source, on peut distinguer deux types d'antioxydants :

A-Les antioxydants endogènes :**Enzymes :****Superoxyde dismutase (SOD)**

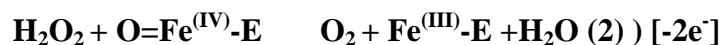
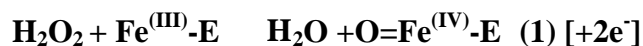
La superoxyde dismutase est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres. Elle est présente dans presque tous les organismes aérobies. Une des rarissimes exceptions est *Lactobacillus plantarum* et les *Lactobacillus* apparentés, qui n'en possèdent pas et utilisent un mécanisme de défense différent [21].

Les catalases (CAT)

La catalase est une enzyme catalysant la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) :



Elle est formée de quatre chaînes polypeptidiques d'environ 500 acides aminés, comportant chacune un hème. Ces hèmes et leur environnement protéique sont les sites actifs de cette enzyme. Pour catalyser la réaction, l'atome de fer d'hème de la catalase réalise une coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène, créant de ce fait une molécule d'eau et un groupement O=Fe^(IV) hautement oxydant ; ce dernier peut ensuite oxyder une autre molécule de peroxyde d'hydrogène pour donner du dioxygène [22]. Ce processus est illustré plus spécifiquement par les équations suivantes :



La glutathion peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase est une enzyme formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine (dans laquelle l'oxygène du groupement hydroxyle de la sérine est remplacé par le sélénium). La glutathion peroxydase est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. Elle assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type ROOH en ROH [23].

Cette enzyme lutte contre les radicaux libres qui, s'ils sont en trop grand nombre, vont attaquer et détruire l'ADN.

L'hème oxygénase

L'hème oxygénase dégrade l'hème (prooxydant) en bilirubine qui est un antioxydant capable de prévenir l'oxydation des LDL. Il existe l'hème oxygénase constitutive et inductible.

Cette dernière est induite par le stress oxydant et les LDLox, et possède un effet antiathérogène chez la souris [24].

a-2-Molécules :

Le glutathion

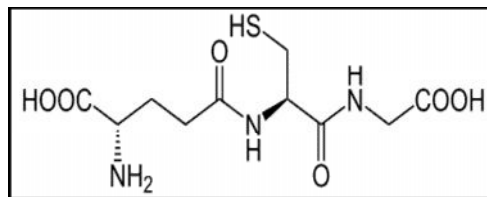
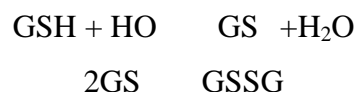


Schéma I-1. Structure du glutathion (GSH).

Au coeur des défenses antioxydantes, le glutathion est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants.



L'acide urique

L'acide urique (Schéma I-2) est un piègeur de $^1\text{O}_2$, des radicaux peroxydes et hydroxyles (RO_2 et HO), de l'ozone et de HClO . La réaction de l'acide urique avec ces EOR génère des radicaux moins réactifs que HO .

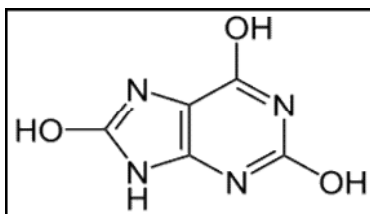


Schéma I-2. Structure de l'acide urique.

B- les antioxydants exogènes :

Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes.

La vitamine E (ou -tocophérol) :

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celle de la famille des tocophérols. Elle a besoin d'interagir avec d'autres composés pour agir correctement. Elle se trouve dans tous nos tissus

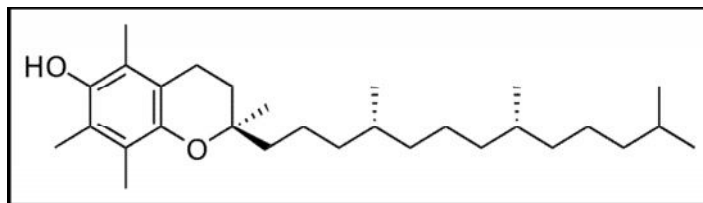


Schéma I-3. Structure de la vitamine E (ou -tocophérol) (T-OH).

L' -tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les LDL. Chaque particule de LDL contient en moyenne de 6 à 12 molécules de vitamine E [25]. La vitamine E (Schéma I-3) interrompt la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés [26]. En effet, la cinétique de cette étape de propagation étant lente [27], la vitamine E peut l'arrêter, en réparant le radical peroxy (AGPIOO) par la formation d'hydroperoxyde (AGPI-OOH) (Schéma I-4).

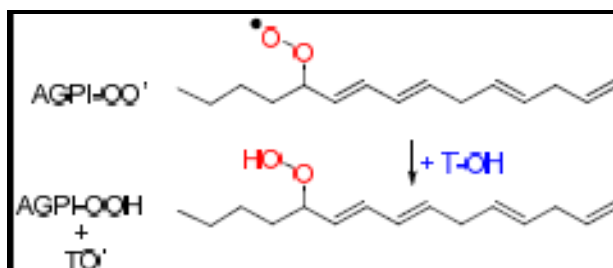


Schéma I-4. Formation d'hydroperoxyde (AGPI-OOH).

Dans cette réaction de piégeage, la vitamine E devient à son tour radicalaire et la vitamine C la régénère.

La vitamine E est la molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang, liée aux lipoprotéines. Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les EOR, soit en régulant à la hausse les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la glutathion peroxydase, la catalase du foie, la glutathion-transférase et la NAD(P)H réductase [28].

La vitamine E n'est pas biosynthétisée. Elle est présente dans les huiles végétales, principalement dans l'huile de germe de blé, de tournesol, de soja, d'arachide ou d'olive. On la trouve aussi en moindre quantité dans les céréales, les amandes, les légumes verts, le beurre, la margarine, les poissons gras.

La vitamine C (ou acide ascorbique)

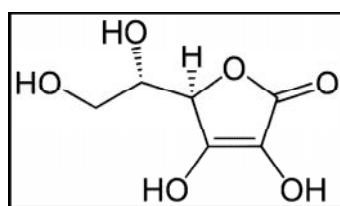
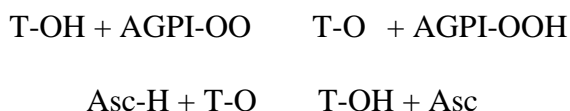


Schéma I-5. Structure de la vitamine C (ou l'acide ascorbique).

La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement l'O₂⁻ et le ONOO⁻).

Elle est aussi capable de recycler l' α -tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique :



La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extra-cellulaires (compartiments hydrophiles) [28]. Ses activités biologiques viennent de son puissant potentiel réducteur ($E^\circ = -0,29 \text{ V}$). Cependant, un effet prooxydant a été constaté en présence de $\text{Fe}^{(\text{III})}$.

Alors que la plupart des mammifères sont capables de la synthétiser, la majorité des primates (dont l'être humain), le cochon d'Inde et certains oiseaux ou poissons en sont incapables. Ceci est le résultat d'une mutation génétique, survenue il y a 40 millions d'années, bloquant la transformation du glucose en acide ascorbique. Les animaux dépourvus de cette capacité de synthèse de la vitamine C doivent donc la puiser dans leur alimentation.

La relation entre ces vitamines

Par interaction avec un radical lipidique R, la vitamine E (T-OH) se transforme en un radical tocophéryle (T-O). Ce dernier est régénéré en T-OH sous l'action de la vitamine C (Asc) qui, à son tour, prend une forme radicalaire (Asc). Le glutathion réduit (GSH) permet de régénérer la vitamine C en se transformant en un radical thyle (GS) qui, par réaction avec lui-même, donne du glutathion oxydé (GSSG) (schéma I-6).

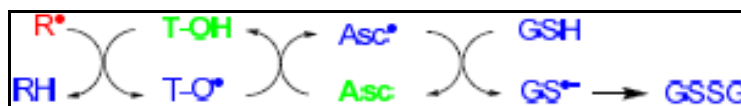
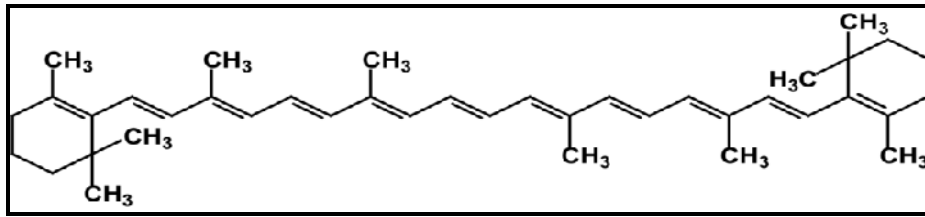


Schéma I-6. Relation entre les vitamines E et C.

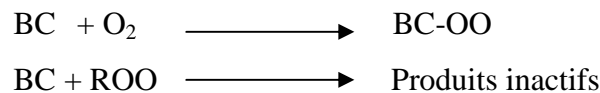
Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont une grande famille qui regroupe plus de 600 molécules. Le plus important et le plus connu des caroténoïdes est le β -carotène (schéma I-7). Il a longtemps été étudié pour son activité de provitamine A. Cependant, tous les caroténoïdes ne peuvent pas être convertis en vitamine A. Ils intéressent de plus en plus les chercheurs pour leur pouvoir antioxydant que n'a pas la vitamine A. Leur fonction dans l'organisme est propre à eux, elle est indépendante de cette conversion.

Schéma I-7. Structure du β -carotène.

Les caroténoïdes peuvent agir en tant qu'antioxydants selon plusieurs mécanismes:

- Ils sont capables de bloquer les chaînes de réactions radicalaires, selon les équations suivantes :



BC : β -carotène

- Ils empêchent l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet. Néanmoins, tous les caroténoïdes n'ont pas la même efficacité pour inactiver l'oxygène singulet. Par ordre décroissant d'efficacité on classe : le lycopène puis le β -carotène et enfin la lutéine.

Comme la vitamine E, les caroténoïdes sont des molécules lipophiles. Ils sont localisés dans la membrane plasmique et participent donc à la protection et au maintien de l'intégrité cellulaire.

Les Oligo-éléments

Ces oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments, le zinc, le sélénium et le manganèse ont une action définie. Les possibles actions antioxydantes du zinc sont :

- Protection contre la diminution de concentration de la vitamine E.
- Stabilisation de la structure membranaire.
- Limitation de la production endogène de radicaux libres.
- Participation à la structure et à la fonction de l'enzyme extracellulaire à activité antioxydante : le superoxyde dismutase.
- Participation au maintien de la concentration tissulaire en métallothionine, molécule potentiellement capable de piéger les radicaux libres.

Le sélénium est connu pour ses propriétés antioxydantes. Il entre dans la constitution de la glutathion peroxydase (GPx). Cette enzyme sélénio-dépendante participe au recyclage du glutathion et réduit la peroxydation lipidique en catalysant la réduction des peroxydes dont le peroxyde d'hydrogène. D'autres rôles sont attribués à cette enzyme :

elle interviendrait dans la transduction des signaux cellulaires, la régulation de l'expression de gènes (par son action au niveau des facteurs de transcription), l'induction de Bêta carotène et jouerait donc un rôle clé lors du cycle cellulaire.

Le manganèse appartient au superoxyde dismutase (SOD) mitochondriale. Cette enzyme fait partie du système de défense antioxydant endogène de l'organisme. Elle permet la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène.

Les minéraux

Nous citerons tout particulièrement, **le magnésium**. Il se trouve dans le chocolat, les produits céréaliers, les légumes et les fruits secs. Son déficit favorise la peroxydation lipidique.

I-2-4-Sources naturelles des antioxydants exogènes:

Les sources naturelles d'antioxydants sont les aliments végétaux comme les légumes (surtout choux divers, oignon, tomate, concombre), les baies, les fruits (melon, etc.), les céréales (riz complet, blé complet, graines de lin), le soja, le thé, le café et des plantes aromatiques: romarin, thym, sauge, origan, marjolaine, muscade, basilic, estragon. Les sources alimentaires des antioxydants précités sont indiquées dans le tableau I-3.

antioxydants	Sources alimentaires
vitamine C	goyave, cassis, kiwi, citron, fraise, orange, persil, poivron, brocoli, choux, cresson, épinard,
vitamine E	noisette fraîche, noix fraîche, kiwi, myrtille, avocat, huile de tournesol, de soja, de maïs, germe de blé, épinard, persil, salsifis,
lycopène	tomate cuite et ses dérivés, pamplemousse rose, pastèque, goyave, papaye,
béta-carotène	mangue, abricots, melon, carotte, persil, oseille, fenouil, tomate,
polyphénols	agrumes, pomme, kiwi, fruits rouges, oignon, oseille, fenouil, tomate,
sélénium	produits de la mer, foie, germe de blé,
zinc	fruits de mer, foie, céréales, lait
cuivre	foie, produits de la mer, noix, patates.

Tableau I-3. Les sources alimentaires des principaux antioxydants.

I-2-5-Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :

Il existe une grande diversité de méthodes physico-chimiques pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels. Plusieurs méthodes s'intéressent à l'analyse des étapes distinctes du processus d'oxydation comme par exemple la mesure : a) affaiblissement du substrat, et/ou la consommation de l'oxygène au cours de l'oxydation ; b) la formation des produits d'oxydation ; c) la capacité à piéger les radicaux libres en différentes phases.

Méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity)

Cette méthode a été décrite pour la première fois par MILLER & RICE-EVANS (1993) [29] puis améliorée en 1999. En fait, elle consiste en la réduction du radical-cation coloré (acide 2,2'-azobis 3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) plus connu sous le nom ABTS⁺. On suit le développement de sa concentration à 734 nm au cours de sa réaction avec les antioxydants. La capacité antioxydante est mesurée comme la concentration (mM) de Trolox (un analogue soluble de la vitamine E) produisant le même effet que l'échantillon d'essai sur la réduction d'ABTS⁺ [30]. La littérature fournit TEAC de certains antioxydants (Vitamine C = 0.99 mM, β -carotène = 1.9 mM).

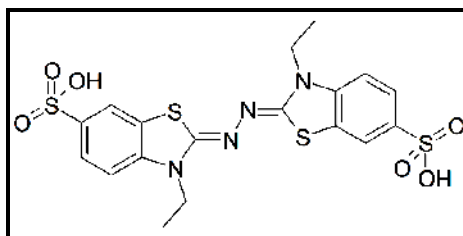
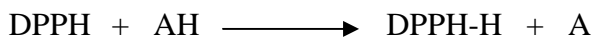


Schéma I-8. Structure du radical-cation ABTS⁺.

Test DPPH (1, 1-Diphenyl-2-ptycrylhydrazyl)

La capacité antioxydante peut être mesurée aussi en utilisant des radicaux libres plus stables. Le Radical 1, 1-Diphenyl-2-ptycrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre plus stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeurs des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration dans la solution initiale. L'avancement de la réaction est suivi par spectrophotométrie à 516nm.



Plus un composé a la facilité de céder son atome d'hydrogène, plus celui-ci est jugé efficace comme antioxydant. Le pourcentage du DPPH restant est proportionnel à la concentration de l'antioxydant. La concentration du composé phénolique nécessaire pour atteindre une disparition de 50% du DPPH à l'équilibre est connue comme la IC_{50} . SANCHEZ - MORENO et al. (1998) [31] ont proposé un autre paramètre pour mesurer l'efficacité antiradicalaire (EA) où le TC_{50} est le temps nécessaire pour arriver à l'état d'équilibre en utilisant la C_{50} . La méthode du DPPH a été utilisée par de nombreux auteurs,

Test de Crocine :

Les Crocine sont des caroténoïdes localisés dans les stigmates du *Crocus salivas* (safran) solubles dans l'eau. Le dosage de la Crocine est basé sur l'oxydation d'une solution de crocine par entrainement de la perte de couleur par la présence d'un radical libre comme ABAP (azodiisobutyramidine dichlorohydrate). Le suivi de la décoloration de la crocine se fait par les de mesures de l'absorbance à 450nm [32].

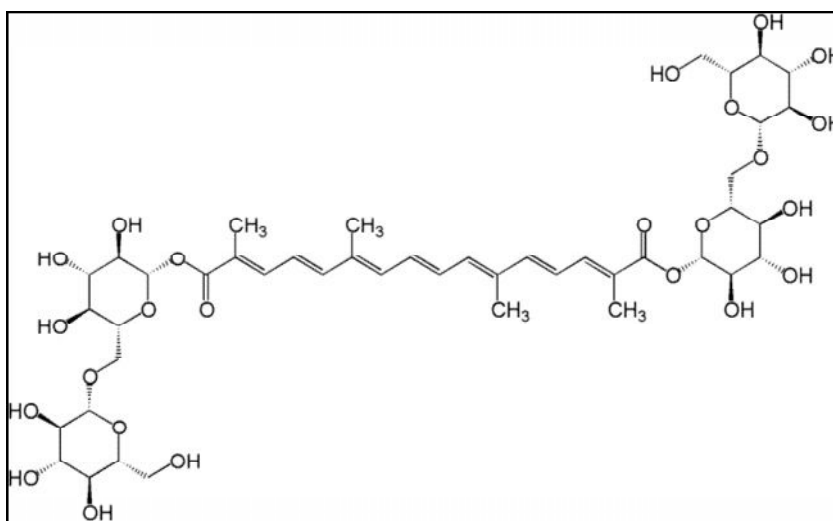


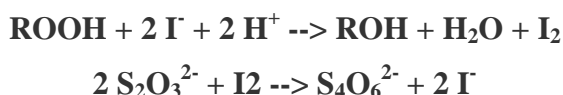
Schéma I-9. Structure de la Crocine.

Méthode par résonance paramagnétique électronique (RPE)

La RPE est une autre technique qui spécifiquement détecte les radicaux libres impliqués dans l'auto-oxydation. Elle permet d'étudier l'effet des antioxydants sur ces radicaux [33]. Cependant, la RPE ne permet pas de détecter les radicaux de courte vie mis en cause dans le processus d'oxydation. D'autres techniques ont été utilisées afin d'améliorer la détection de ces radicaux ; par exemple la radiolyse pulsée, la photolyse UV. La RPE est une technique relativement nouvelle pour l'étude des antioxydants et l'oxydation lipidique. Malgré ses limitations, elle est considérée comme prometteuse par le fait qu'elle permet la mesure des concentrations des radicaux libres formés durant le processus d'oxydation.

Détermination de l'indice de peroxyde (IP)

Cette méthode permet de mesurer les produits primaires d'oxydation tels que les peroxydes formés lors de l'oxydation lipidique en jouant un rôle essentiel dans l'auto-oxydation des lipides. L'inhibition de leur formation et/ou l'action des antioxydants peut être employée comme indicateur afin d'évaluer l'activité antioxydante. Il s'agit d'une analyse volumétrique de l'iode libéré à partir de l'iodure de potassium par l'oxydation avec des peroxydes à température ambiante et dans un milieu chloroforme/acide acétique.



Détermination des diènes conjugués

Méthode très employée qui utilise des produits intermédiaires d'oxydation (diènes conjugués). La quantification des diènes conjugués se réalise en calculant l'augmentation de l'absorbance à 234-235 nm et les triènes conjugués à 268 nm par rapport à la masse de l'échantillon dans le temps fixe. La mesure de la formation des diènes conjugués présente l'avantage de permettre l'évaluation dans une étape initiale du processus d'oxydation.

Cependant, la méthode des diènes conjugués par spectroscopie UV fournissant peu d'information concernant la nature des composés impliqués. La sélectivité de cette technique peut être améliorée par la séparation des différents diènes conjugués en utilisant la chromatographie à haute performance HPLC [33].

Méthode de sr-TBA (Substances Réactives Thiobarbuturic Acid)

Méthode aussi communément utilisée pour évaluer l'activité antioxydante. Le test sr-TBA mesure la quantité de dialdéhyde malonique (MDA) qui se forme comme produit d'un endoperoxyde des AGI au cours de l'oxydation lipidique. Le MDA réagit avec l'acide thiobarbuturique pour donner des pigments de coloration rouge. La quantité de pigments peut être mesurée par spectroscopie à 532-535 nm. L'oxydation est inhibée par l'action des antioxydants et par conséquent on peut observer une diminution de l'absorbance. L'activité antioxydante est déterminée par le pourcentage d'inhibition de la formation de MDA. La décomposition des produits primaires de l'oxydation lipidique produit des mélanges complexes comprenant des époxydes, des cétones, des hydrocarbures et des aldéhydes saturés et insaturés tels que l'héxanal. C'est ainsi que plusieurs mesures de ces produits finaux ont été utilisées dans le but d'évaluer la capacité antioxydante. Par exemple l'indice d'anisidine a été couramment employé pour mesurer la formation de 2-alcène au cours de l'oxydation des lipides. Les composés comportant dans leurs structures des groupements carbonyles en incluant le pentanal, et l'octa-3,5-diène-2-one semblent être les principaux responsables du mauvais goût associé à la rancidité dans plusieurs produits alimentaire [34]. L'héxanal est le produit final le plus abondant, et par conséquent le plus employé comme marqueur de la propagation du processus d'oxydation lipidique.

Chapitre II

Les Plantes M dicinales

II-1-Généralités sur les plantes médicinales

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de la médecine de nos grands parents, cependant, malgré le développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies qui étaient souvent mortelles, les plantes médicinales et les remèdes qu'on pouvait en tirer ne furent jamais totalement abandonnés et les gens ne cessèrent jamais de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir vivante une tradition thérapeutique connue depuis nos ancêtres.

II-1-1-Plantes médicinales et Grandes Civilisations :

La Mésopotamie :

A cette époque on utilise environ 250 plantes médicinales. Le roi **Hammourabi** (environ 1700 avant JC) est un précurseur : il aurait encouragé la culture des plantes médicinales. Il institue un code important (qui porte son nom) dont plusieurs articles sont consacrés à la responsabilité civile et pénale des médecins.

L'Égypte :

- Imhotep (environ 2700 avant J.C.), architecte, fut aussi un grand médecin ; sa réputation était telle qu'il fut divinisé.
- Le papyrus Ebers est l'un des plus anciens traités médicaux qui nous soit parvenu : il aurait été rédigé entre 1500 et 1600 avant notre ère, pendant le règne d'Aménophis Ier. Dans ce papyrus, la Scille est reconnue et déjà utilisée pour ses effets diurétiques.

L'Inde :

Les plus anciennes données sur les connaissances et les pratiques médicales en Inde sont fournies par les restes matériels de la civilisation dite "de l'Indus" (2500-1500 environ avant J.-C.). C'est vers la fin de la période védique (Veda : vers 1500 avant JC) que la médecine indienne

a commencé à se constituer progressivement en un système cohérent auquel a été donné le nom d'Âyurveda, le "Savoir (veda) sur la longévité (âyur)".

La Chine :

2000 (ou 2800 suivant les ouvrages) av. JC, Chen-Nong rédigea le premier livre de matière médicale (365 médicaments décrits) Il fut divinisé comme Imhotep.

Entre tous les peuples de la Méditerranée et du Moyen-Orient les plantes et sans doute aussi les « pratiques médicales » circulent. Par exemple les Phéniciens au 12ème av. JC vendent entre autres à la Grèce : encens, myrrhe, poivre, gingembre, cannelle.

La Grèce :

Le dieu de la médecine est Asclépios (Esculape chez les latins), il est représenté par un serpent (que l'on retrouve dans le caducée) (Pour mémoire la plante appelée *dompte-venin* fait partie des Asclépiadacées). Hippocrate (460-377), « père de la médecine », utilise 230 plantes, il considère la maladie comme un phénomène naturel et non magique. Aristote dresse une liste de 500 plantes, pour lui l'expérience est le fondement de toute science. Galien (2ème siècle après J.C.) est considéré comme le Père de la pharmacie et, à ce titre, est l'auteur du serment de Galien prononcé par les pharmaciens lors de l'obtention de leur diplôme.

L'empire arabo-islamique :

Après la chute des empires romains et Perses, les musulmans héritèrent des connaissances accumulées dans l'extrême orient et dans la méditerranée, car comme pour les grecs, l'extension de l'islam par les arabes dans un grand espace allant de l'inde à l'Europe, et c'est durant cette période que beaucoup de livres ont été traduits du grec, du latin et du perse. Parmi les musulmans qui ont largement opéré ces traductions, qui sont en nombre de 230 manuscrits il faut citer Abou Bakr Mohamed Ibn Zakaria El Razi (865-925) plus connu sous le nom de Razès, parmi ses écrits les plus importants il y a le livre El Haoui (Les contenances) qui fut un récapitulatif de toutes les connaissances depuis Hippocrate.

Après Razès, le plus célèbre des médecins musulmans est Avicenne de son vrai nom Abu Ali Ibn Sina (980-1037), qui dès l'âge de 17 ans s'adonna à la médecine, et il écrivit son célèbre

livre intitulé El Kanoun fi Tib, traduit partout dans le monde et utilisé comme référence jusqu'à nos jours.

Nous citerons parmi les derniers médecins arabes du 17^{ème} siècle Abdl Razak Ibn Haddouche El Djazairi (1695-1785) à qui on doit un livre intitulé liste des plantes médicinales qui fut traduit durant la période coloniale de l'arabe au français .

II-1-2-Définition de la Phytothérapie :

D'un point de vue étymologique, le terme « phyto » de *phytothérapie* provient du grec ancien avec le terme plus précis de « *phyton* » et signifie « végétal ». La phytothérapie est donc la « thérapie par le végétal ou par le monde végétal », c'est la connaissance et l'utilisation des propriétés thérapeutiques des plantes.

II-1-3-Définition d'une plante médicinale :

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Son efficacité relève de ses composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

II-1-4-Définition d'un principe actif :

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pour-cent à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel. De nombreux médicaments renferment des principes actifs extraits des plantes. La coumarine, que l'on retrouve dans le Mélilot, entre dans la composition de nombreux médicaments anticoagulants.

II-1-5- Chiffres de l'OMS :

En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de soins de santé [35]. Précisément, dans certains pays d'Afrique, les plantes médicinales représentent la seule source de médicaments pour près de 90% de la population [36]. De même, dans de nombreux pays asiatiques la médecine traditionnelle continue d'être largement

utilisée, même si l'allopathie est facilement disponible. En Chine, l'utilisation des remèdes traditionnels représente 40% de tous les soins de santé. En même temps, pour certains pays de l'Amérique Latine, il a été rapporté que 71% de la population de Chili et 40% de la population de Colombie ont utilisé la médecine traditionnelle.

La médecine traditionnelle est également très populaire dans de nombreux pays développés parce qu'elle est fermement intégrée à des systèmes de croyance plus globaux [1].

Tous ces chiffres montrent que les gens se tournent, de nouveau, vers la médecine traditionnelle et surtout vers les plantes médicinales.

II-1-6-Principales substances curatives des plantes médicinales :

Les plantes synthétisent les éléments du sol et de l'atmosphère qu'elles absorbent par les racines et par les feuilles : l'eau, l'acide carbonique et les matières minérales et inorganiques. Le processus de base est l'assimilation photosynthétique du gaz carbonique, appelé simplement photosynthèse. Les premiers produits de la photosynthèse sont des substances à basse molécularité appelés métabolites primaires : les saccharides (sucres), puis les acides gras, les acides aminés. Ensuite sont produits les métabolites spécialisés. Certains possèdent des vertus thérapeutiques.

Parmi les métabolites primaires, les saccharides entrent dans la préparation des comprimés, servent de base aux mucilages. Certains acides aminés ne sont pas produits par l'organisme humain auquel ils sont pourtant indispensables et doivent donc être ingérés. Les métabolites contenant de l'iode assurent le bon fonctionnement de la glande thyroïde. Les plus composés, comme l'insuline, forment la base des hormones ainsi que des antibiotiques. Les plus importants sont les protéines.

Parmi les métabolites spécialisés, les principaux sont: Les flavonoïdes, la rutine, qui renforcent les parois des capillaires sanguins, les corps terpéniques (dérivés du terpène, parmi lesquels le menthol, le camphre, etc.). À noter que les corps terpéniques forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines.

Les principes amers permettant la digestion des matières grasses, les saponines (sapo = savon) sont utilisées comme expectorants et diurétiques, les alcaloïdes à effets thérapeutiques nombreux mais qui peuvent être aussi des poisons mortels.

On pourrait prolonger l'énumération : d'autres métabolites spécialisés agissent contre les allergies, l'hypertension, les maladies infectieuses et forment même la base de produits anticonceptionnels.

II-1-7-Culture et récolte des plantes médicinales :

Pendant des siècles, l'homme s'est contenté de cueillir les plantes à usage médicinal à l'état sauvage. Cette pratique n'est plus possible de nos jours pour deux raisons principales :

- Les Cueillettes répétées épuiseraient très rapidement les espèces sauvages.
- L'obligation d'obtenir des variétés bien définies pour des raisons d'efficacité et de sécurité, n'était pas compatible avec la part que la nature laisse au hasard des croisements et des mutations.

Il est donc devenu nécessaire de pratiquer la culture de plantes médicinales. Cette culture doit impérativement obéir à des règles rigoureuses :

- Choix précis de l'espèce botanique la plus riche en principes actifs.
- Choix strict de la région de culture aux sols et climat les plus adaptés au développement optimum de chaque plante.
- Sélection au sein de cette région des terrains exempts de toute pollution.
- Nécessité d'une parfaite maîtrise de la culture, afin de garantir l'absence de tout élément étranger; ce qui sous-entend une formation des agriculteurs aux techniques de culture biologique des plantes médicinales.
- Nécessité de contrôles dès le stade de la culture.

Une fois la récolte effectuée, la conservation doit être adaptée à chacune des plantes médicinales, afin de préserver toute l'activité de la plante, en appliquant des normes bien définies. Enfin, les plantes sont analysées selon des procédés modernes :

- Vérification de la teneur en principes actifs.
- Recherche de l'absence de pesticides.

Ainsi, tout risque de falsification ou de contamination est écarté. Efficacité de sécurité est garantie.

II-1-8-Intérêts des plantes médicinales :**Intérêt médical :**

La médecine traditionnelle permet la prise en charge sanitaire d'une grande majorité des populations des pays en développement. En Afrique, jusqu'à 80 % de la population a recours à la médecine traditionnelle (OMS, 2003). Elle est donc capitale pour la santé dans ces pays. De nombreux médicaments utilisés en médecine moderne sont issus de connaissances traditionnelles. De nos jours, on estime que près de 25 % des médicaments modernes sont préparés à base de plantes qui ont au départ été utilisées traditionnellement (OMS, 2003). Aussi, certaines pathologies comme l'hépatite semblent mieux traitées par la médecine traditionnelle.

Intérêt scientifique :

D'importantes recherches scientifiques sont menées sur les plantes médicinales traditionnelles. Ces recherches sont incontournables dans la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses. Elles peuvent alors permettre aux pays africains de tenir le haut du pavé dans ce domaine au regard de l'importante richesse du savoir médical traditionnel africain.

Intérêt économique :

Les plantes médicinales sont aussi un facteur économique majeur pour les pays en développement : Au moins 35 000 espèces végétales sont utilisées dans le monde à des fins médicales. Alors que les médicaments industriels les plus importants sont produits à partir de 90 espèces environ, Le marché des plantes médicinales mobilise des ressources financières colossales. Le développement de ce marché peut constituer une source de devises pour les pays concernés tout en limitant l'importation de médicaments.

II-1-9-Avantages et inconvénients de la phytothérapie :

Comme toutes les formes de soins de santé alternatifs, la phytothérapie a des avantages et des inconvénients, voici quelques-uns d'entre eux :

Les Avantages :

- La phytothérapie est rentable et moins coûteuse que les médicaments achetés dans une pharmacie allopathique.
- Un autre mérite de la phytothérapie, c'est qu'il peut être acheté sans ordonnance. Ils sont disponibles dans n'importe quel magasin de la santé.
- La phytothérapie et les remèdes sont plus efficaces que la médecine allopathique pour certains maux.
- La médecine chimique prescrite par un pharmacien pourrait avoir certains effets secondaires négatifs. Cependant, la plupart des herbes médicinales et les remèdes n'ont pas d'effets secondaires négatifs. Le cas échéant, ils sont plus doux que la médecine allopathique.
- La phytothérapie peut être utilisée efficacement pour le processus de détoxification du corps naturel. Les herbes telles que la graine de *Psyllium plantago*, poudre de jus de rhubarbe, d'aloé vera, de jus de luzerne, la chlorelle, concentré de carotte et l'ail peut être utilisé pour nettoyer le côlon, améliorer la digestion et l'absorption des aliments et de stimuler votre système immunitaire. Quelques troubles digestifs comme la colite, l'indigestion, les ulcères gastro-duodénaux et le syndrome du côlon irritable peuvent être guéris en utilisant les herbes.
- La phytothérapie, qui inclut des herbes telles que le gingembre, le poivron, l'ail et agripaume aider à contrôler les maladies liées à la circulation du sang telles que l'hypertension artérielle, les ulcères variqueux et ainsi de suite. Beaucoup de plantes médicinales sont utilisées pour traiter les maladies coronariennes et de réduire le niveau de cholestérol dans le sang.
- L'obésité est la cause de nombreux problèmes de santé. La phytothérapie peut aider à réduire l'excès de poids et de réguler l'appétit.

Les inconvénients :

- La Cure utilisant phytothérapie et compléments prendrait un certain temps. Vous devez posséder une immense patience.
- La phytothérapie contient divers ingrédients et on doit être sûr que le corps n'est pas allergique de ces ingrédients.
- La phytothérapie et la médecine pour certaines affections peuvent avoir des effets secondaires négatifs. Ces effets secondaires ne peut être révélé immédiatement, mais cela

prendrait des mois voire des années. Dans les premières étapes, si la phytothérapie n'est pas convenable, il est sage de cesser de l'utiliser.

- Le gouvernement ne réglemente pas l'industrie des plantes médicinales, par conséquent, il n'y a pas d'assurance qualité pour les produits à base de plantes.
- Il y a très peu de bons praticiens de la phytothérapie, et il serait sage de s'assurer qu'on consulte un bon praticien avant de commencer sur cette méthode.

II-2-Etude Botanique de l'*Acacia arabica*

Les légumineuses sont des plantes herbacées ou teigneuses, à feuilles isolées, stipulées et généralement composées. Le fruit est une gousse ou légume, s'ouvrant par deux valves. Cette famille est l'une des plus importantes du règne végétal avec 13000 espèces, est divisée du point de vue systématique en trois sous-familles : Papilionacées, Césalpiniées et mimosées.

Acacia est un vaste genre de la sous-famille mimosée, et qui comprend plus de 1300 espèces dont la plupart (plus de 900) se trouve en Australie, plus de 200 en Amérique et environ 130 en Afrique. *Acacia arabica* appartient au sous-genre *Acacia*, qui englobe toutes les espèces africaines d'*Acacia* ayant des stipules épineuses droites.

II-2-1-Systématique de la plante

Règne	Végétal	Ordre	Rosales
Sous règne	Eucaryotes	Sous-ordre	Rosinées
Embranchement	Spermaphytes	Famille	Fabaceae
S/Embranchement	Angiospermes	Sous famille	Mimosoideae
Classe	Dicotylédones	Genre	<i>Acacia-Mil.</i> [37]
Sous classe	Dialypétales	Sous-genre	<i>Acacia arabica Wil.</i>

Synonymes:

Acacia nilotica Willd – *Acacia scorpioides W.Wight*

Noms vernaculaires

Amoura, Sanat (Arabe). Taggart (Tamacheq). Bagaroua (Haoussa) Babla, gommier rouge, nebneb (Français). Babul acacia (nom commercial), scented thorn, scented-pod acacia (Anglais). [38]

II-2-2-Origin et répartition géographique

Acacia Arabica est indigène dans les zones sèches d'Afrique tropicale et d'Asie occidentale, et plus à l'est jusqu'à l'Inde, le Myanmar et le Sri Lanka. En Afrique, on le trouve du Sénégal à l'Égypte et vers le sud, de l'Afrique orientale jusqu'au Mozambique, se trouve au Sahara méridional, plus rare au Sahara central (Hoggar, Tassili), à l'Afrique du Sud (au Natal) et aux îles de l'océan Indien [38]. Il a été diffusé dans tous les tropiques et s'est naturalisé dans de nombreuses régions, par ex. au Cap Vert, la Jamaïque, au Népal, en Indonésie, au Vietnam et en Australie. Il est largement cultivé dans le sous-continent indien. Figure II-1.

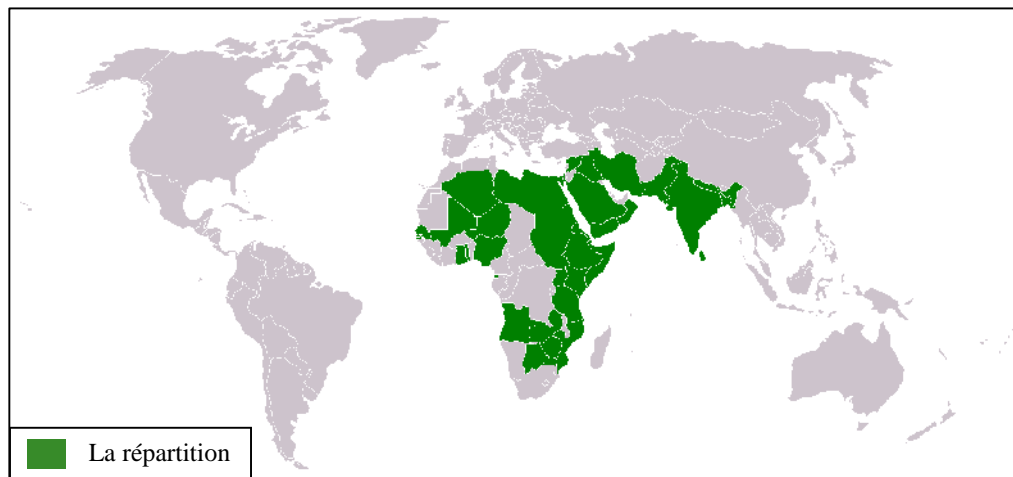


Figure II-1. Répartition géographique de l'*Acacia arabica*.

II-2-3-Description botanique

Arbre à tronc unique, sempervirent à caducifolié atteignant 15m de haut ; système racinaire profond et étendu ; tronc droit, atteignant 100 cm de diamètre ; écorce rugueuse et fissurée longitudinalement, de 1–1,5 cm d'épaisseur, grise à noir brunâtre, jeunes tiges gris-brun et lisses ; cime aplatie ou arrondie ; rameaux munis de deux épines stipulaires de 1–5 cm de long, droites mais généralement dirigées de façon caractéristique vers le bas [39]. Figure II-2.



Figure II-2. L'arbre de *l'Acacia arabica* [40].

Feuilles alternes, composées bipennées, avec 2–14 paires de pennes ; pétiole de 0,5–2,5 cm de long ; rachis de 1–10 cm de long, avec des glandes à la base de chaque paire de pennes ou de quelques paires apicales seulement ; folioles en 7–36 paires par penne, elliptiques ou étroitement oblongues, de 1,5–7 mm × 0,5–2 mm, arrondies et obliques à la base, apex obtus, glabres à pubescentes. Inflorescence : capitules globuleux, 1–6 aux aisselles des feuilles, avec une paire de petites bractées dans la partie basse du pédoncule ; capitule comptant environ 50 fleurs. Figure II-3.



Figure II-3. Feuilles, pennes et fleurs de *l'Acacia arabica* [40].

Fleurs bisexuées ou mâles, 4–6-mères, jaune vif ou jaune d’or, parfumées ; lobes du calice de 1–2 mm de long, glabres ou pubescents ; lobes de la corolle de 2,5–3,5 mm de long, glabres ou pubescents ; étamines nombreuses, libres, atteignant 6 mm de long, glanduleuses ; ovaire supère, 1-loculaire, style long et mince. Figure II-3.

Fruit : gousse oblongue à linéaire, aplatie, de 4–22 cm × 1–2 cm, droite ou courbe, bords entiers ou profondément comprimés entre les graines, l’emplacement de chaque graine clairement marqué par une nette protubérance sur les valves des gousses, marron foncé à grise, glabre ou duveteuse, indéhiscente, contenant 6–17 graines. Graines à contour elliptique à circulaire, aplaties, de 6,5–9 mm × 5–8 mm, brun foncé à noir brunâtre. Plantule à germination épigée ; cotylédons circulaires ovales, pétiolés. Figure II-4.



Figure II-4. Gousses de *l'Acacia arabica* [40].

II-2-4-Croissance et développement

Acacia Arabica est une espèce pionnière. Un système racinaire profond et étendu se forme dans les endroits secs, la racine pivotante se développant d’abord suivie par les racines latérales, qui deviennent compactes et massives avec l’âge. Dans les endroits inondés en revanche, le système racinaire est largement latéral. *Acacia arabica* forme des nodosités et fixe l’azote partout dans son aire de répartition naturelle. Il ne drageonne que très rarement. *Acacia arabica* fleurit relativement tôt, vers l’âge de 3–4 ans environ dans des conditions idéales. La floraison est prolifique et intervient sur les pousses de la saison en cours, principalement durant

la saison des pluies. Si l'approvisionnement en eau est suffisant, il peut y avoir plusieurs floraisons par an.

La feuillaison de cet arbre se fait en Février, la floraison de Mai à Novembre et le fruit apparaît à partir de Juin. La fructification de l'*Acacia arabica* s'effectue de Novembre à Janvier. [41]

II-2-5-Propriétés de la plante

En Inde, la teneur en tanin de gousses entières d'*Acacia arabica* varie entre 12–19% et entre 18–27% après élimination des graines [42, 43]. Au Soudan, des gousses égrenées peuvent titrer jusqu'à 50% de tanins [44]. Les graines sont généralement éliminées en raison de leur teneur élevée en composés sucrés. Les tanins des gousses tombées à terre s'hydrolysent dans le sol en donnant des acides gallique et ellagique qui sont allélopathiques pour la couche d'herbe. [43]

L'écorce de l'*Acacia arabica* constitue l'une des matières tannantes les plus importantes du nord de l'Inde ; sa teneur en tanin varie entre 7–20% du poids sec, avec un rapport tanins / non tanins de 1,5 [45]. Les tanins, qui appartiennent au groupe des pro-anthocyanidines, voient leur teneur augmenter dans l'écorce à mesure que l'arbre vieillit. L'écorce contient également des matières colorantes du type des "phlobatanins", qui donnent une couleur rouge foncée au cuir. [46]

Le bois de cœur est rouge pâle à marron rosé, fonçant souvent au contact de l'air, se distinguant très nettement de l'aubier qui est d'un blanc jaunâtre. Le bois est dur, résistant et lourd, avec une densité de 650–830 kg/m³ à un degré d'humidité de 15%, mais on a signalé une densité de 1170 kg/m³ pour du bois provenant d'Afrique du Sud [47]. A une teneur en humidité de 15%. Le bois a une forte teneur en silice qui émousse rapidement les outils de coupe mais il est très résistant s'il est bien conditionné. Il fait un excellent combustible, la valeur énergétique du bois de cœur sans humidité étant de 20 710 kJ/kg. Il produit du charbon de bois de qualité supérieure avec une valeur énergétique de 27 950–28 600 kJ/kg [47, 49].

La valeur nutritionnelle des feuilles (matière sèche) est approximativement la suivante : protéines brutes 13,9%, fibres brutes 9,2%, extractif non azoté 69,8%, cendres 7–10%, Ca 2,6%, Mg 0,4% et P 0,1% et leur appétibilité n'est pas mauvaise. Les gousses aussi sont utilisées comme

fourrage et contiennent environ 11–16% de protéines brutes et 8–21% de fibres brutes, même si elles renferment également des tanins. Les graines ont des taux faibles d'inhibiteurs de protéinase, la trypsine et la chymotrypsine [43].

La couleur de la gomme d'*Acacia arabica*, allant du brun jaunâtre très pâle au brun rougeâtre foncé, en fonction de la quantité de tanins présents dans l'échantillon. Ce sont les gommages les plus claires, solubles dans l'eau et très visqueuses, qui sont les plus prisées ; les tanins présents dans les gommages plus sombres réduisent leur solubilité. La gomme a une teneur en eau d'environ 13% et est légèrement dextrogyre. Elle se compose de galactoarabane qui donne par hydrolyse L-arabinose, D-galactose, L-rhamnose, acide D-glucuronique et acide 4- O-méthyl-D-glucuronique [50].

II-2-6-Intérêt de la plante :

Intérêt économique :

C'est un arbre qui permet la fourniture de certains produits comme : Bois de construction, pâte à papier, parfums, aussi il est utilisé pour l'ornementation [51]. Grâce à sa gomme qui a été la première source gomme arabique commercialisée, l'*Acacia arabica* joue un rôle très important dans la vie socio-économique des populations autochtones [52].

En Afrique, la production et le commerce de tanin, de bois d'œuvre et d'autres produits issus d'*Acacia arabica* sont importants au niveau local et national, mais peu de produits participent au commerce international de quelque manière que ce soit et on manque de statistiques récentes sur la consommation nationale et sur les exportations. En Inde, la production annuelle d'écorce de cet arbre pour le tanin était estimée en 1994 à 22 000 tonnes, correspondant à une valeur de 1,2 million US\$ [53].

Bois :

Acacia arabica est vraiment un arbre à usages multiples, largement employé comme bois d'œuvre, charbon,...etc. Le bois de cœur marron foncé est presque deux fois aussi dur que le teck et très résistant aux chocs, il est largement utilisé en construction, pour les traverses de chemin de fer, les étais des mines, les manches d'outils et les charrettes [49].

Tannage du cuir :

Les gousses mûres séchées utilisées dans les tanneries locales au Soudan donnent un cuir d'un blanc rosé de bonne qualité. Le tanin extrait des gousses est connu universellement sous son nom haoussa : "bagaruwa" [54].

En revanche, en Inde et au Pakistan, c'est son écorce, sous-produit issu des plantations de bois d'œuvre, qui est utilisée pour le tannage et la teinture du cuir. Le tanin produit un cuir lourd qui est ferme, résistant et dur, mais combiné aux myrobalans (provenant d'espèces de *Terminalia*), il donne un excellent cuir. Le tanin de l'écorce est utilisé surtout au Bengale et au Bangladesh pour teindre le coton et la laine en diverses nuances de brun, et en noir en le combinant avec un mordantage au sulfure de fer ou à la boue ferrugineuse [41, 45, 53].

Fourrage :

Tant les feuilles que les gousses font un excellent fourrage, riche en protéines. Les fleurs, quant à elles, produisent un miel de bonne qualité. Les Haoussas utilisent les graines grillées comme condiment alimentaire. En Tanzanie, l'écorce interne ainsi que l'épaisse pulpe des fruits sont bouillies dans l'eau et consommées en infusion. Dans l'est de Java (Indonésie), les graines germées sont consommées comme légume, et des graines bien grillées sont mélangées au café [52, 55, 56].

Intérêt Pharmaceutique :

Les tanins contribuent à ses multiples usages médicaux, la plante agissant comme un puissant astringent. Une décoction du fruit est considérée comme un fébrifuge, et les graines ont des activités antipaludéennes [57], antidiabétiques, anti-hypertensives et antispasmodiques [58]. Les gousses ont des propriétés molluscicides et algicides, et sont introduites dans les étangs au Soudan afin de tuer les escargots vecteurs de la schistosomose sans mettre en danger les poissons. L'écorce, la gomme, les feuilles ainsi que les gousses entrent dans la fabrication de nombreux médicaments traditionnels, car elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires [59].

II-2-7-Quelques recettes de la thérapie traditionnelle indienne : [60- 62]

Brûlures: Les gousses de la plante ajoutées à l'huile de moutarde et bouillies dans de l'eau jusqu'à réduction, cette préparation est ensuite appliquée sur les zones affectées.

Maladies de la gencive: Les gousses sont mâchées pour un soulagement immédiat.

Soins dentaires: Une décoction des gousses dans l'eau est utilisée comme un bain de bouche, cela renforce les dents et élimine d'autres problèmes dentaires.

Maladies de poumons: les gousses sont bouillies dans de l'eau jusqu'à réduction à moitié, cette préparation est administrée au patient après ajout du sucre.

Diarrhée: le jus extrait des feuilles de la plante est administré oralement.

Problèmes des voies urinaires : Des quantités égales des gousses fraîches et des graines sont moulues jusqu'à obtention d'une pâte fine. Une cuillère de cette pâte est donnée avec de l'eau.

Chapitre III

Les Polyph nols

Les polyphénols sont considérés comme des composés quasi universels des végétaux. Structurellement, ils se répartissent en plusieurs classes allant de composés présentant un simple noyau phénolique (ex.: acide gallique) à des composés polymériques complexes comme les tanins.

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit.

In vitro, les polyphénols présentent des activités antioxydantes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces activités sont attribuées en partie à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyle (HO^\bullet) et superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) mais aussi à leur affinité pour une grande variété de protéines dont certains enzymes et récepteurs.

III-1-Présentation générale sur les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production [63, 64].

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles et qui ne contiennent aucun atome d'azote et qui dérivent de la biogénèse d'acide chiquimique ou/et d'acétate [65]. Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés nommés flavonoïdes diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique.

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière.

III-1-1 Classification des polyphénols

Une classification de ces substances a été proposée par HARBORNE en 1980 (Tableau III-1) [66]. On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

Les principales classes qui sont largement répandues :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques),
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines

Plus rares, les coumarines, les stilbènes ne seront pas décrit en détail ici.

Tableau III-1. Principales classes de composés phénoliques [67].

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C ₆	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïque	<i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, Acide férulique	Pomme de terre, pomme, citrus
	Phénylpropène	Myristicin, Eugénol	
	Coumarines	Scopolitine	
	Isocoumarines	Myristicine, Eugénol	
	Chromones	Eugénine	
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone, plumbagine	Noix
Polyphénols			
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthonnes	Mangiférine	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
	Anthraquinones	Anthraquinones	
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, daidzéine	Fruits, légumes, fleurs, soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
	Néolignanes	Eusidérine	
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoïdes	Amentoflavone	
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, fruits à noyaux, raisins, kaki
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés		

III-1-1-1-Polyphénols monomériques

a- Acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués (schéma III-1) :

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique,
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique.

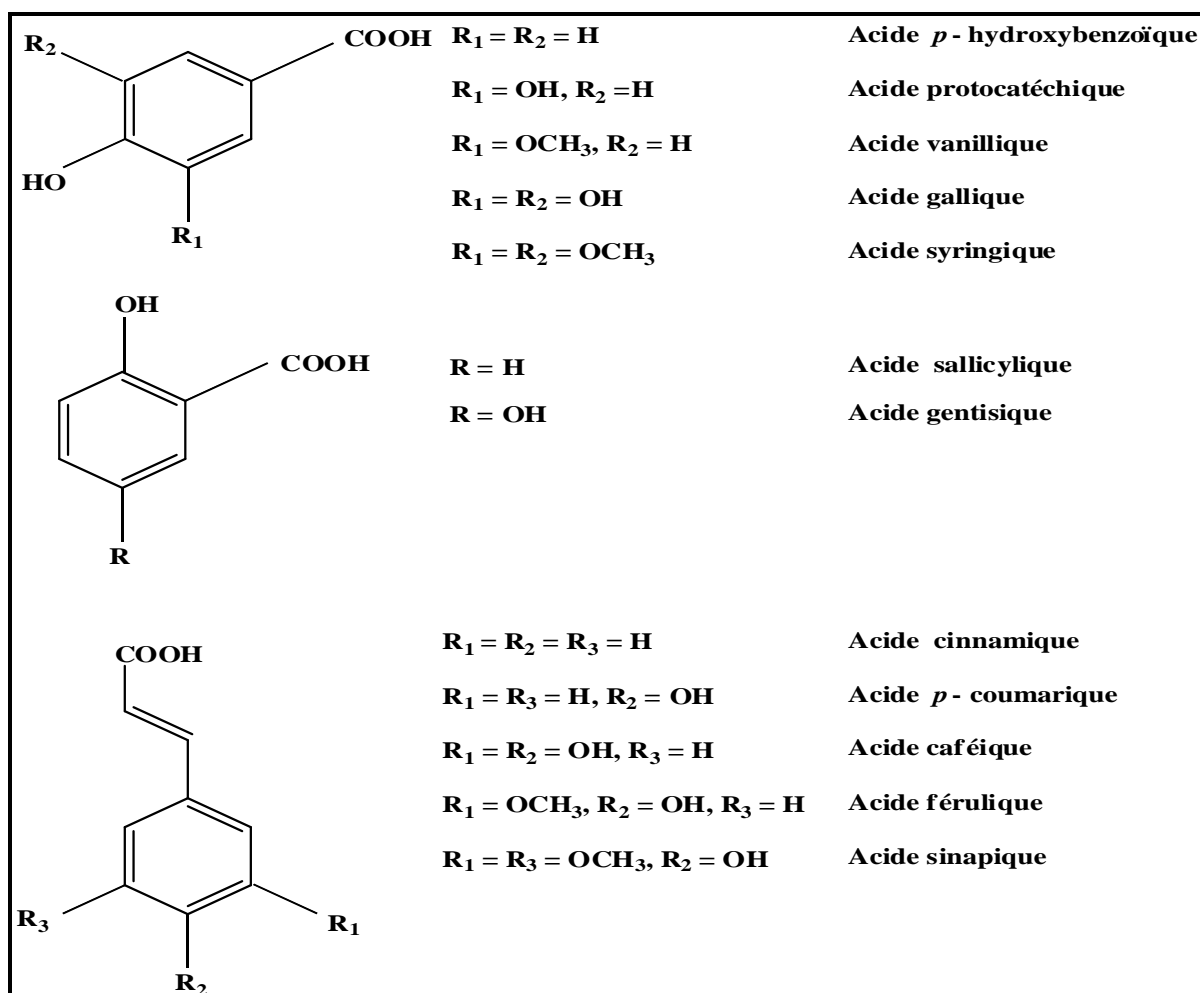


Schéma III-1. Exemples d'acides phénoliques.

Les acides hydroxycinnamiques peuvent exister sous deux formes diastéréoisomères (présence de la double liaison de la chaîne latérale): cis (Z) et trans (E). Les formes trans sont les plus abondantes, car thermodynamiquement plus stables.

Les acides hydroxycinnamiques sont naturellement présents associés avec diverses molécules provenant de voies métaboliques différentes. On les trouve sous forme :

- d'esters avec des acides-alcools, dont le plus commun est l'acide quinique. L'acide 5-caféoylquinique est l'acide chlorogénique, composé très répandu dans le règne végétal et l'alimentation;
- d'esters glycosidiques (sucres liés à la fonction acide);
- d'hétérosides (sucres liés à la fonction phénolique).

b- Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronnes et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits.

Plusieurs milliers des molécules ont été identifiées à ce jour. Ainsi nous en absorbons chaque fois que nous consommons un aliment d'origine végétale. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones « **2-phényl-1-benzopyrane** », constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A et B), reliés par un cycle pyranique central (schéma III-2).

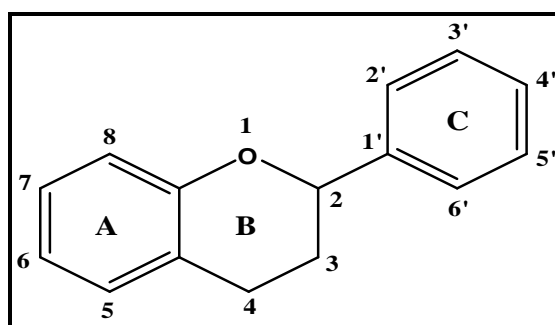


Schéma III-2. Structure de base des flavonoïdes

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles libres, méthylés ou glycosylés) sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle central C.

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'- tétrahydroxychalcone (schéma III-3).

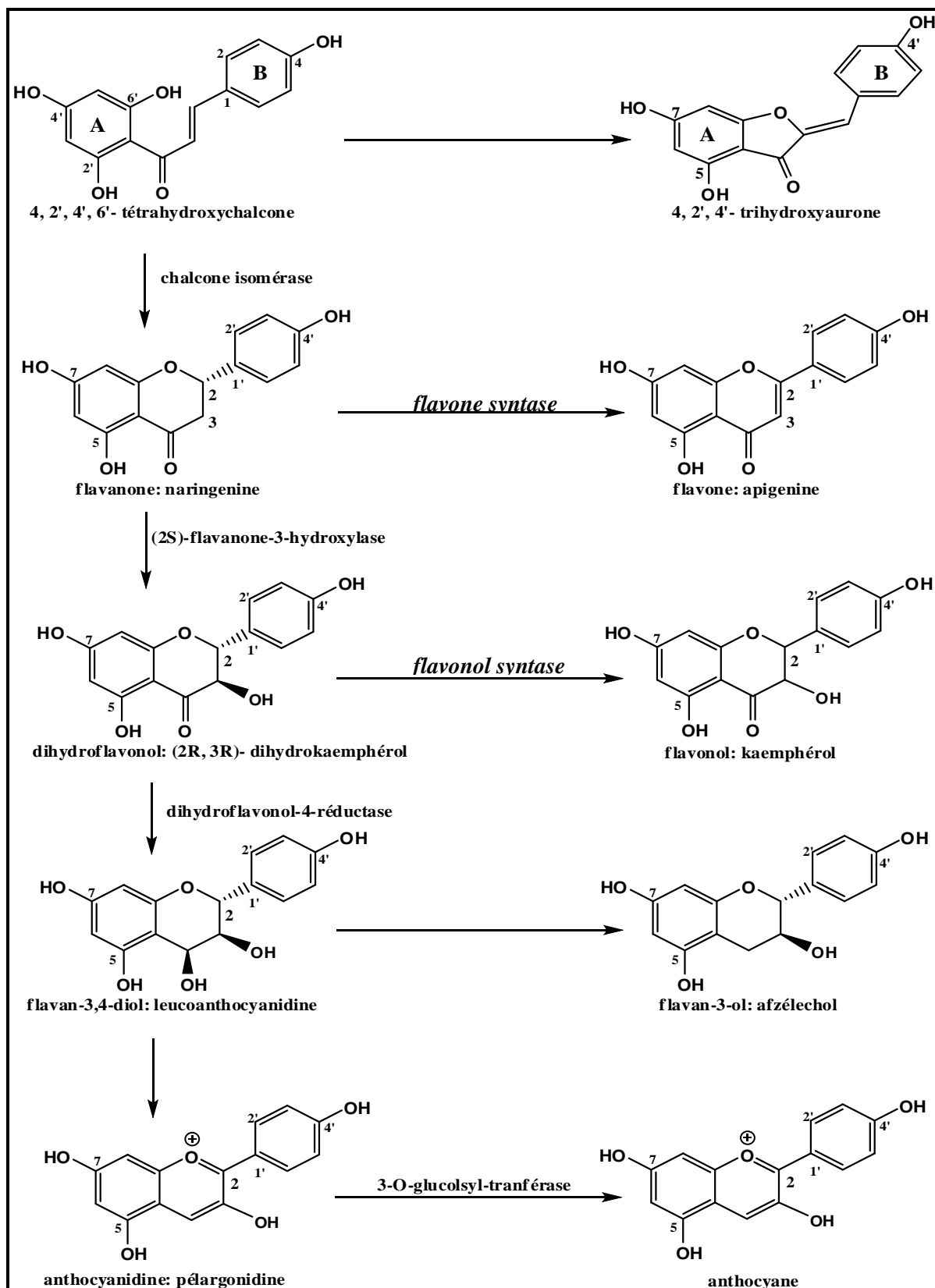


Schéma III-3. Biosynthèse des flavonoïdes [68].

Flavones et flavonols

Comme nous l'avons signalé plus haut, tous les types des flavonoïdes dérivent de la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone et par conséquent, possèdent généralement trois hydroxyles phénoliques en C-5, C-7 et C-4' (Schéma III-3).

Dans plus de 90% des cas, le noyau A des flavones et flavonols est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C-5 et en C-7. D'autres substitutions sont possibles avec des fréquences variables : les groupements hydroxyles peuvent être libres ou méthylés, ou impliqués dans une liaison glycosidique.

Le noyau B est monosubstitué dans 80% des cas en position 4', ou disubstitué en positions 3' et 4', ou trisubstitué (moins fréquemment) en positions 3', 4' et 5'. Ces substituants peuvent être des groupes OH ou OMe. Les positions 2' et 6' ne sont qu'exceptionnellement substituées.

Le noyau C peut être substitué par un groupement OH, OMe ou O-Gly.

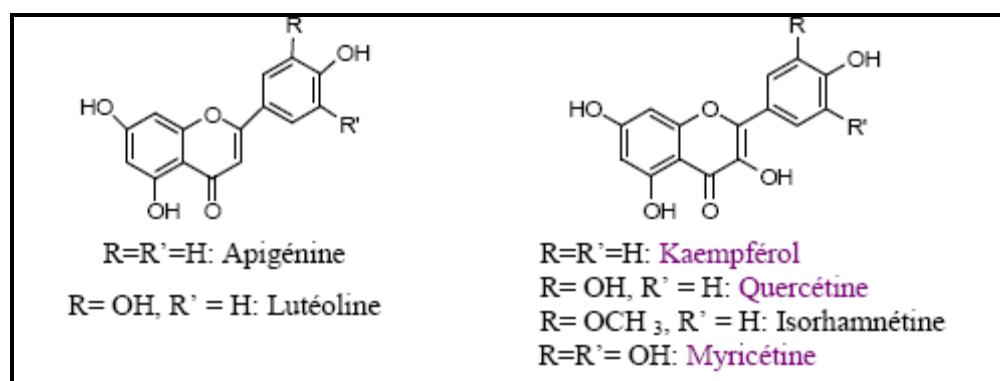


Schéma III-4. Structures chimiques des flavones et des flavonols

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C-3 (Figure III-4). Ces composés constituent le groupe le plus hydroxylé de la famille des flavonoïdes. Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose, D-galactose, L-rhamnose et L-arabinose.

Flavanones et flavanonols

Les flavanones et les flavanonols (dihydroflavonols) sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence d'un carbone asymétrique en C2, voire en C3. Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et flavonols.

Les flavanonols (encore appelés dihydroflavonols) se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3. Cette classe de flavonoïdes semble un peu moins fréquente que son homologue insaturé regroupant les flavones et flavonols. Sur la Schéma III-5 sont représentés des exemples de molécules appartenant à ce groupe de flavonoïdes.

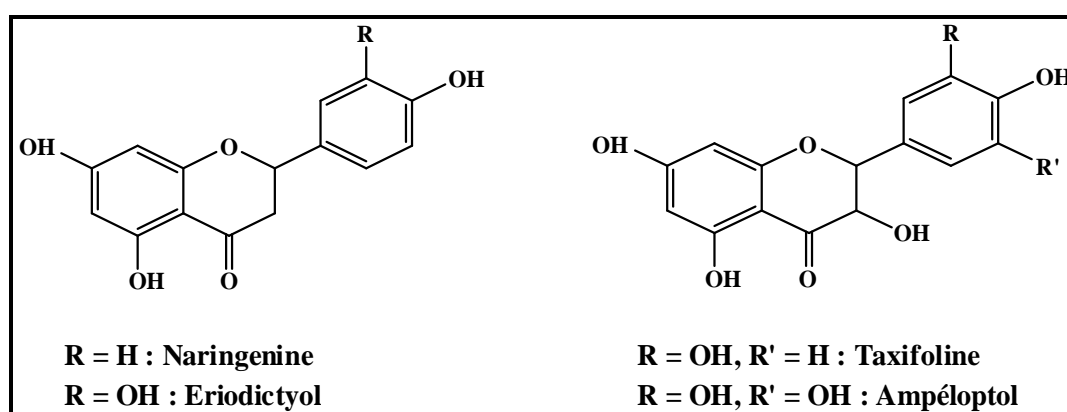


Schéma III-5. Structures chimiques des flavanones et flavanonols

Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols

À la différence des flavanones et des flavanonols, ces deux groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C4 (Schéma III-6).

Les flavan-3-ols (appelés aussi les catéchines) possèdent deux atomes asymétriques en C2 et C3. Chaque composé peut alors exister sous forme de quatre stéréoisomères optiquement actifs : (+)-catéchine, (+)-épicatéchine, (-)-catéchine, (-)-épicatéchine. Le premier et le quatrième sont les formes les plus répandues.

Les flavan-3,4-diols se distinguent des catéchines par la présence du OH en position 4 (Schéma III-6). Ils possèdent trois atomes de carbones asymétriques, et peuvent, théoriquement, exister sous forme de huit stéréoisomères optiquement actifs, mais ces entités n'ont pu être isolées à l'état individuel stable. Ces composés réactifs sont les précurseurs des procyanidines oligomériques [69].

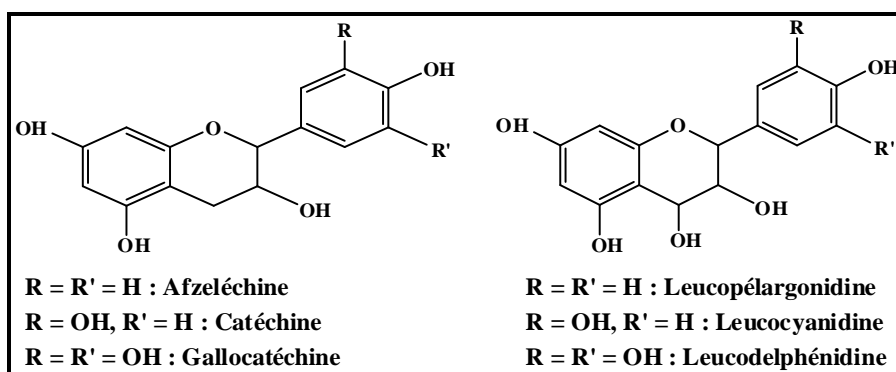


Schéma III-6. Structures chimiques des flavan-3-ols et flavan-3,4-diols

Anthocyanes

Ce sont des pigments rouges en milieu acide, virant au bleu en milieu alcalin ; ils sont très répandus dans les fleurs et les fruits.

Les anthocyanes sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium) porteur de 3 cycles aromatiques conjugués d'où l'absorption de lumière visible [70].

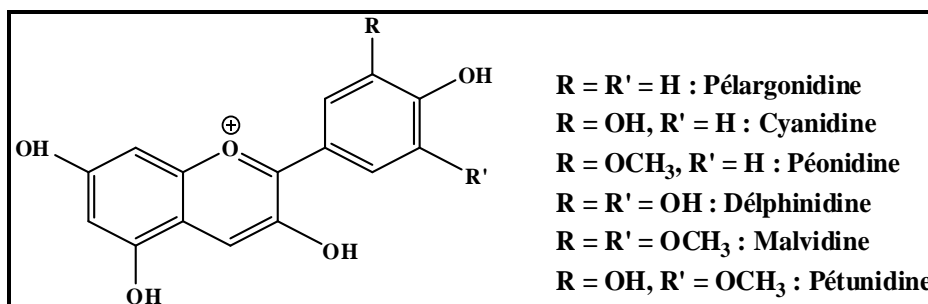


Schéma III-7. Structures chimiques des anthocyanes

Dans la nature, ces pigments n'existent pas sous forme aglycone, mais sous forme d'hétérosides. Les sucres sont liés au chromophore en position 3, mais aussi en position 5 et plus rarement en position 7 [70].

Chalcones et auronnes

Les chalcones sont différents des autres types des flavonoïdes cités ci-dessus. De par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique, α,β -insaturée (Schéma III-8). Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont identiques à celles des autres flavonoïdes.

Les auronnes sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumaranone.

Pour ces deux types de molécules, la numérotation des positions est différente des autres flavonoïdes décrits précédemment (schéma III-3).

Ces composés sont extrêmement fréquents dans les fleurs sous forme de pigments contribuant à la couleur jaune.

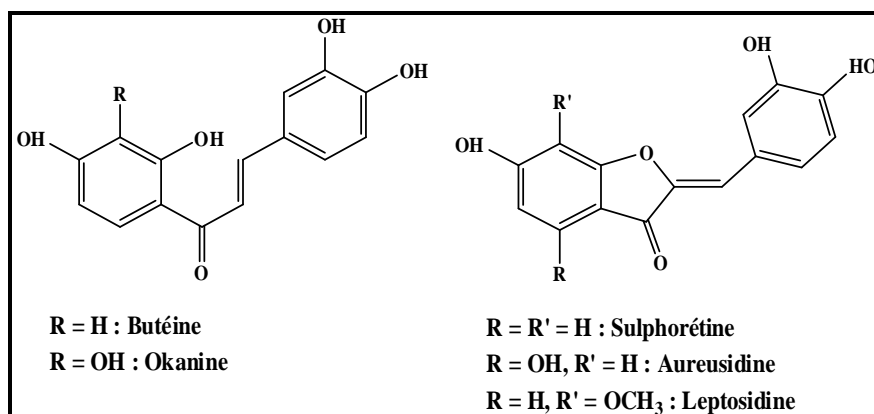


Schéma III-8. Structures chimiques des chalcones et auronnes

III-1-1-2-Polyphénols sous forme de polymères

a- Tanins

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes.

De se fait, toute classification chimique des tanins est forcément arbitraire. Cependant, on se réfère souvent à une distinction entre tanins hydrolysables et tanins condensés [71].

- Tanins hydrolysables : ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifiée par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acide ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.
- Tanins condensés : ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). Ils sont aussi désignés aussi sous le nom de « tanins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides.

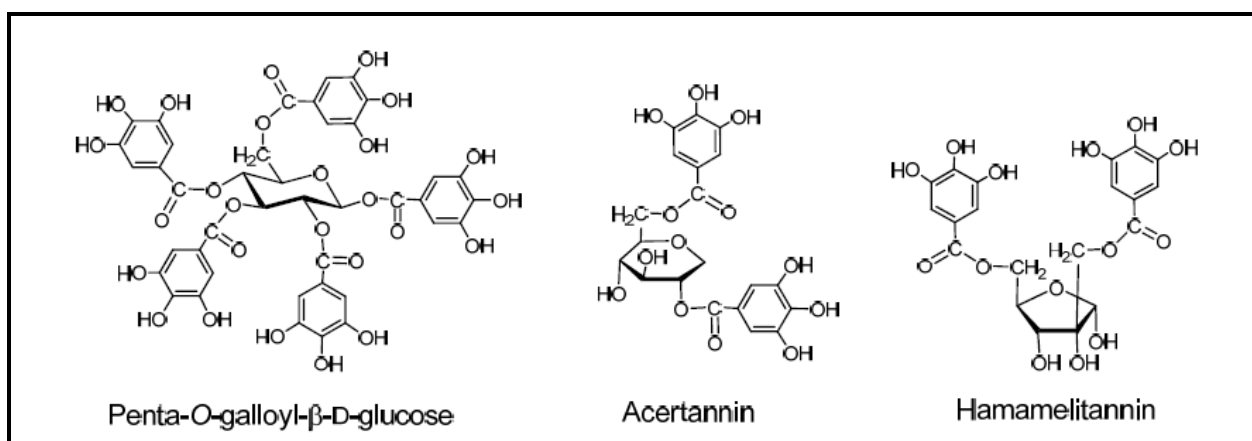


Schéma III-9. Structures chimiques de quelques tanins

b- Lignines

Ces composés de haut poids molécules contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation (copolymérisation) de trois alcools phénylpropéniques.

III-2-Propriétés chimiques des polyphénols

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux Phénoliques [72], particulièrement des substituants à effet mésomère attracteur d'électrons (-M) et substituants à effet mésomère donneur (+M). La conjugaison d'une des deux paires libres de l'atome O avec le cycle traduit l'effet (+M) du groupe OH. Ce phénomène augmente la délocalisation électronique et produit une charge négative partielle sur les atomes C2, C4, C6.

L'effet (+M) peut être représenté par quatre formes mésomères.

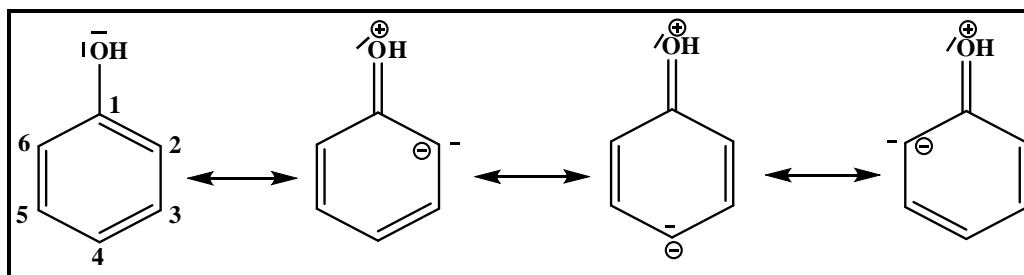


Schéma III-10. Formes mésomères du phénol

De ces caractères de base découlent les différentes propriétés physico-chimiques suivantes :

III-2-1-Nucléophilie

La nucléophilie des composés phénoliques est portée par l'atome d'oxygène et les atomes de carbone en ortho et para du groupement OH (suite à l'effet (+M)). Cette propriété est à l'origine des réactions de substituants électrophiles aromatique (alkylation, acylation, etc.) régiosélectives des positions ortho et para. Les substituants de type 1,3-dihydroxy (résorcinol) et 1,3,5-trihydroxy (phloroglucinol) permettent une accumulation de densité électronique sur les sommets C2, C4 et C6 (tous *ortho* ou *para* des groupements OH), accentuant ainsi le caractère nucléophile.

III-2-2-Propriétés réductrices

Le potentiel d'ionisation (PI) d'une molécule est l'énergie minimale qu'il faut lui fournir pour lui arracher un électron. Plus un composé aromatique est substitué par des groupements donneurs d'électrons, plus son PI est faible et plus son caractère réducteur est grand. Il peut alors subir une oxydation mono-électronique qui conduit au radical correspondant. Dans le cas d'un phénol ArOH, le radical-cation formé est un acide fort qui se déprotone aussitôt pour conduire à un radical phénoxy ou aryloxy ArO^\bullet [72].

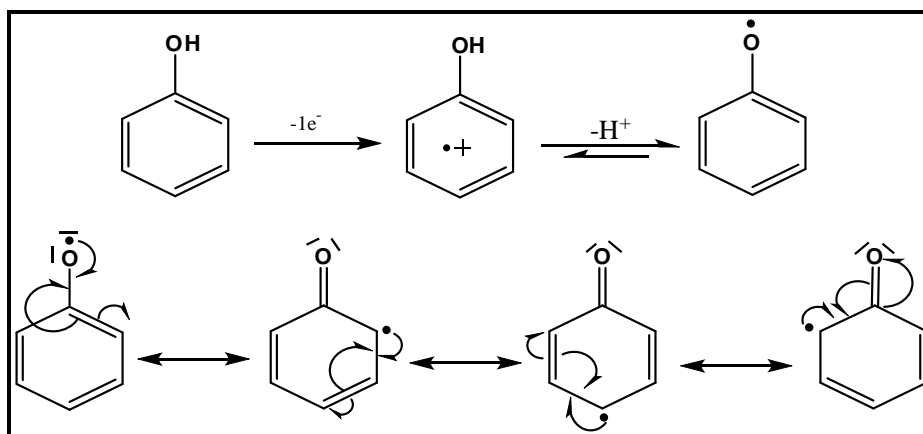


Schéma III-11. Oxydation mono-électronique d'un phénol et formes mésomères du radical aryloxy formé.

Le radical aryloxy (ArO^\bullet) peut être formé directement par transfert d'hydrogène phénolique vers un radical de haute énergie tels que les radicaux oxyl (RO^\bullet) et peroxy (ROO^\bullet) formés par exemple au cours de l'autoxydation des lipides.

Ces réactions de transfert d'atome H et/ou d'électrons avec conversion d'un radical très réactif en radical aryloxy stabilisé par résonance sont l'un des principaux mécanismes d'actions antioxydantes des phénols. La capacité du phénol à céder un atome H peut être quantifiée par l'énergie de dissociation homolytique de la liaison OH (*bond dissociation energy, BDE*). Plus la BDE d'un phénol est faible, plus fort est son caractère donneur d'hydrogène.

III-2-3-Polarisabilité

La polarisabilité des phénols leur permet de développer de fortes interactions moléculaires de dispersion (composante attractive des interactions de Vander Waals) avec autres composés polarisables. Ce phénomène résulte du couplage entre les fluctuations électroniques de deux molécules voisines. Ainsi, en solution aqueuse, l'interaction du noyau benzénique apolaire du phénol avec une autre entité polarisable telle qu'un second cycle aromatique est favorisée par l'effet hydrophobe (schéma III-12).

Les molécules d'eau de solvation s'organisent de manière à maintenir entre elles autant de liaison hydrogène que possible, et de ce fait, l'empilement de deux noyaux benzéniques dans l'eau a deux conséquences avantageuses :

- Le développement de forte interaction de dispersion entre les deux noyaux ;
- Le relargage d'une partie des molécules d'eau de solvation dans le corps du solvant.

La combinaison des interactions de dispersion et de l'effet hydrophobe constitue la principale force motrice pour la complexation moléculaire des phénols dans l'eau.

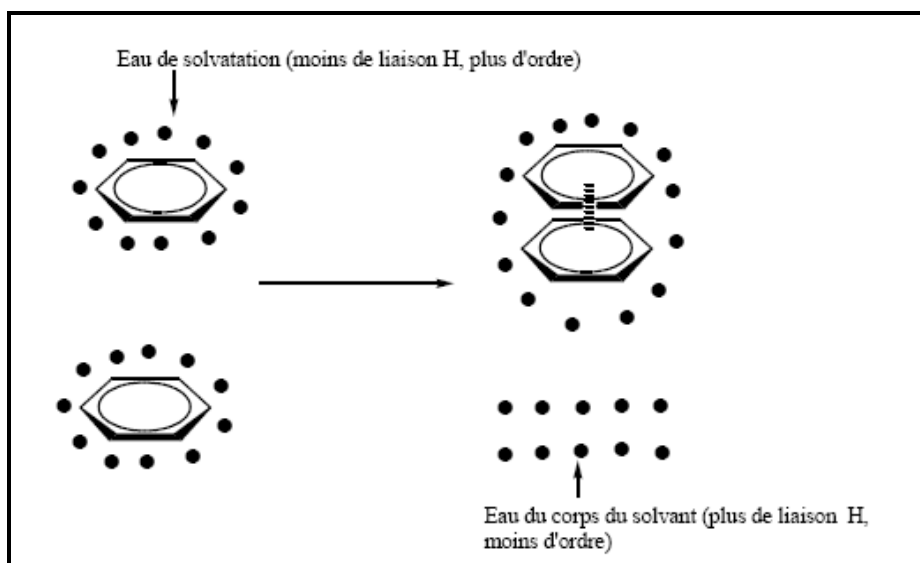


Schéma III-12. Effet hydrophobe

III-2-4-Liaison hydrogène

Les phénols sont des donneurs de liaison hydrogène (liaison H) en raison du caractère acide du proton du groupe OH. Ce sont aussi des accepteurs de liaison H. En fait, seule la paire libre de l'atome O qui n'est pas conjuguée avec le cycle est capable d'accepter une liaison H en provenance d'un donneur. Ainsi, un phénol est capable de donner une liaison H et d'en recevoir une seulement. Notons que ces liaisons H se renforcent mutuellement (coopérativité). Par exemple, en donnant une liaison H, le phénol allonge sa liaison OH. Cet état de prédissociation accentue la densité électronique sur le centre O et donc son caractère accepteur de liaison H.

III-2-5-Acidité

La coupure hétérolytique de la liaison OH (déprotonation) entraîne la formation d'un ion phénate dans lequel la délocalisation électronique de l'atome O vers le cycle (effet +M) est fortement augmentée (schéma III-11). Ce phénomène et la forte solvation de l'anion phénate par formation de liaison H avec l'eau permettent d'expliquer les propriétés acides faibles des phénols dans l'eau. Les propriétés caractéristiques des phénols (nucléophilie,

caractère réducteur, polarisabilité ont amplifiées lors de la formation des anions phénates correspondants.

Les groupements OH en position para et ortho des noyaux phénoliques de polyphénols présentent un caractère acide renforcé, ce qui permet une dissociation au moins partielle à pH neutre. Cette exaltation de l'acidité est due à la stabilisation de l'ion phénate correspondant par délocalisation de la densité électronique vers le groupement à effet (-M). Elle peut être traduite en termes de formes mésomères.

III-3-Stabilité des polyphénols

L'oxydation des polyphénols est susceptible d'intervenir :

- Par voie enzymatique (catalysée par la polyphénoloxylase dans des conditions d'aérobies ou par les peroxydases en présence de peroxyde d'hydrogène) au cours des procédés technologiques d'élaboration des aliments ou après ingestion (catabolisme oxydant).
- Par voie non enzymatique : autoxydation lors des traitements thermiques, oxydation conjointe à l'action antioxydante. Dans ce dernier cas, il s'agit typiquement de processus d'oxydation couplés à la peroxydation des lipides polyinsaturés et qui peuvent intervenir dans l'aliment ou chez l'homme après ingestion.

III-4-Rôle des polyphénols dans les plantes

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries.

D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne [73]. Ainsi, il a été montré que les catéchines des feuilles du thé inhibent

la croissance de micro-organismes en altérant des fonctions membranaires des pathogènes, les détruisant à plus ou moins long terme [74].

III-5-Importance nutritionnelle des polyphénols

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la qualité organoleptique des fruits et légumes, utilisés frais ou après transformation industrielle.

L'intérêt thérapeutique potentiel des polyphénols date de la découverte de la vitamine C par Szent Gyorgyi (Prix Nobel 1937), chercheur à l'Université Szeged (Hongrie), qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut, liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou du jus de citron, riche en vitamine C et flavonoïdes. Cette action a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre de mot perméabilité). Malgré ces premiers résultats encourageants, les recherches ne permirent par ensuite d'attribuer un rôle essentiel aux divers polyphénols d'origine végétale. A partir des années quatre-vingts, c'est la découverte du rôle des radicaux libres dans les processus pathologiques qui a relancé l'intérêt pour les polyphénols dont les propriétés antioxydants sont remarquables.

III-5-1-Les polyphénols comme antioxydants

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante sont (*Halliwell, 1994*) [75] :

- Le piégeage direct des EOR ;
- L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR;
- La protection des systèmes de défense antioxydants.

Les polyphénols peuvent agir selon ces divers mécanismes.

III-5-1-1-Inhibition enzymatique

Les phénomènes d'interaction polyphénols - protéines ont été largement étudiés *in vitro*, particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes, [76, 77] modulation du fonctionnement de divers récepteurs ainsi que du processus de transcription de certains gènes (par interaction du cytosol avec les facteurs de transcription ou certains précurseurs).

Outre les effets antioxydants, ces interactions, qui sont encore à valider *in vivo*, sont vraisemblablement à la base des effets bénéfiques des polyphénols. Par exemples, les acides hydroxycinnamiques sont des inhibiteurs de protéines de coagulation (la thrombine et le facteur Xa), et jouent ainsi un rôle d'anticoagulant [78].

L'inhibition de la production des EOR par les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage directe des EOR [79, 80]. Ce double action est bien illustré par le cas de la xanthine oxydase, cet enzyme est considérée comme une source biologique importante de radical superoxyde. Hansaki et ses collaborateurs, dans une étude sur la maladie de la goutte, ont montré que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase et par conséquent, peuvent prévenir cette maladie en réduisant à la fois les concentrations de l'acide urique et celles du radical superoxyde dans les tissus humains [81]. Cos et ses collaborateurs ont confirmé les résultats de Hansaki, et ont établi les relations entre la structure chimique des flavonoïdes et leur capacité d'inhiber la formation de superoxyde par inhibition de la xanthine oxydase (formation de complexes enzyme-inhibiteur) et/ou par réduction du superoxyde produit (Schéma III-13) [82]. Les résultats de cette étude sont les suivants :

- Les flavanones, les dihydroflavonols et les flavan-3-ols (cycle C non plan) ne sont pas inhibiteurs de la xanthine oxydase ;
- Les flavonols et les flavones (cycle C plan et conjugué avec les cycles A et B) ont la capacité d'inhiber l'enzyme.
- L'absence du groupe hydroxyle en C3 augmente légèrement l'activité inhibitrice. Les flavonoïdes glycosylées ont des activités inférieures à celles des composés non glycosylés. Par exemple, la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine.
- Les flavonoïdes présentant un cycle B de type catéchol (*ortho*-diphénol ou 1,2-dihydroxybenzène) sont de bons pièges à superoxyde en raison de la stabilité des radicaux semiquinones formés lors de la capture (voir plus loin).

De nombreux flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs des métalloenzymes tels que lipoxygénase [80].

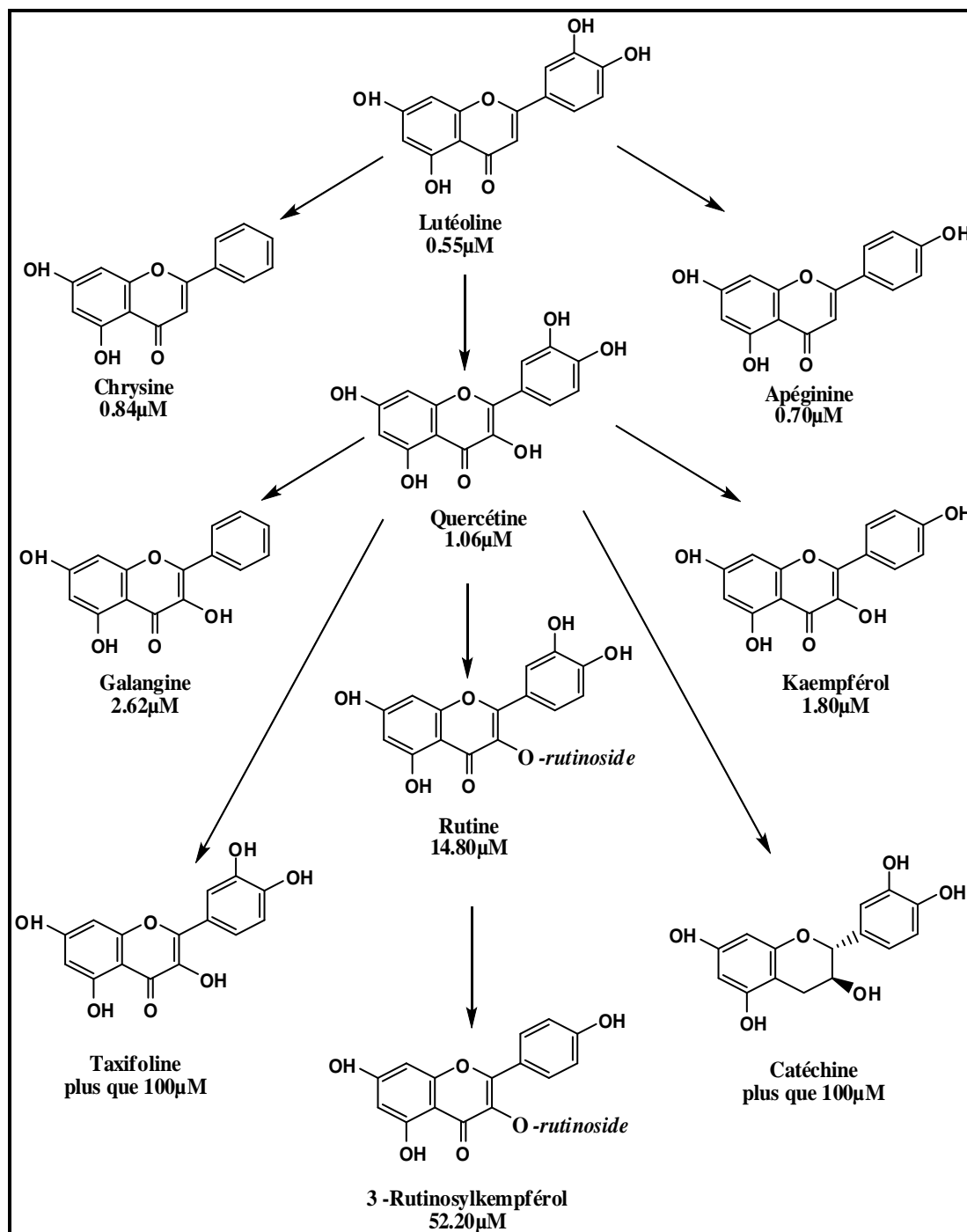
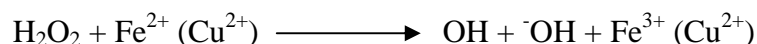


Schéma III-13. Relation structure - activité des flavonoïdes sur l'inhibition de la xanthine oxydase (les valeurs sont les IC_{50}) [82].

III-5-1-2-Chélation des ions métalliques

Les ions du fer ou du cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, les ions du fer pour la catalase, et ceux

du cuivre pour le superoxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton :



En outre, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^{2+} est une source de superoxyde et peroxyde d'hydrogène. Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante.

Divers polyphénols abondants dans les plantes et dans l'alimentation sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques [83-85]. La complexation des ions métalliques par les polyphénols induit typiquement un déplacement bathochrome de leurs bandes d'absorption dans le domaine UV-Visible. Les études menées par Van Acker et ses collaborateurs sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques (schéma III-14) [86].

- (i) les groupes 3',4'-hydroxy du cycle B,
- (ii) les groupes 3-hydroxy et 4-oxo du cycle C,
- (iii) les groupes 4-oxo et 5-hydroxy.

Ainsi, la quercétine qui combine tous ces substituants est un complexant métallique particulièrement efficace.

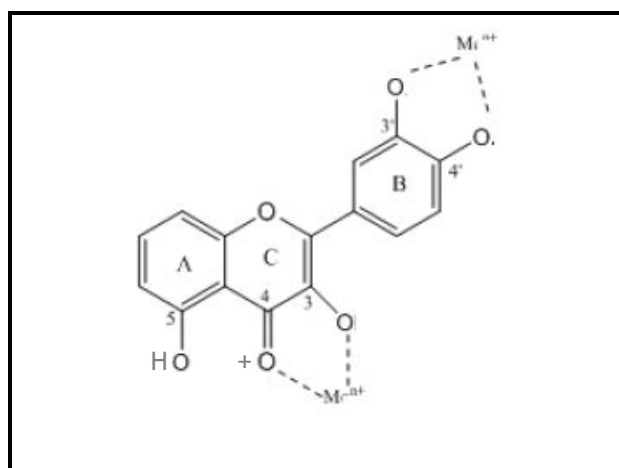
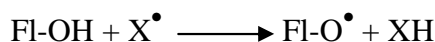


Schéma III-14. Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (M^{n+}).

III-5-1-3-Piégeage des radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. Grâce à leur faible potentiel redox, [87] les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes (Fl-OH), sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO^\bullet), alkoxydes (RO^\bullet) et hydroxyle par transfert d'hydrogène :



Où X^\bullet représente l'un des EOR mentionnés préalablement.

Le radical aryloxyde (Fl-O^\bullet) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (schéma III-15).

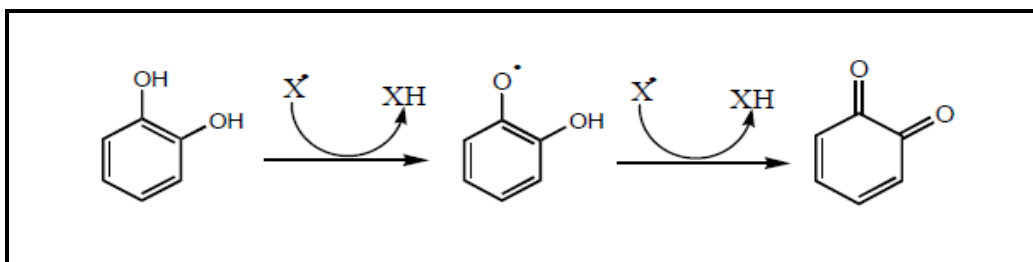


Schéma III-15. Piégeage des EOR par les flavonoïdes

Eventuellement, le radical aryloxyde peut réduire le dioxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet prooxydant des flavonoïdes. Ainsi, la capacité antioxydante des polyphénols dépend non seulement du potentiel redox du couple $\text{Fl-O}^\bullet/\text{Fl-OOH}$ mais aussi de la réactivité du radical Fl-O^\bullet .

Plusieurs travaux ont établi des relations entre la structure chimique des polyphénols et leur capacité à piéger les radicaux libres [88-92]. Ainsi, Cuvelier et ses collaborateurs ont testé l'activité antioxydante des acides phénoliques et obtenu les résultats suivants:[93]

- Les acides cinnamiques ont une activité antiradicalaire supérieure à celle des acides benzoïques correspondants. Les acides caféique, sinapique, férulique et *p*-coumarique sont respectivement plus actifs que les acides protocatéchique, syringique, vanillique et *p*-hydroxybenzoïque. Ils sont plus actifs que les phénols simples: acide *p*-coumarique phénol et acide caféique, pyrocatechol. Ainsi, le groupe $\text{CH}=\text{CHCOOH}$ participe à la stabilisation du radical aryloxyde par résonance.

- Les acides benzoïques sont, quant à eux, moins actifs que leurs homologues phénols, ce qui tend à démontrer le rôle négatif du COOH directement fixé sur le noyau benzénique.
- L'addition d'un second OH sur le cycle aromatique augmente fortement l'activité antioxydante des acides phénoliques, particulièrement quand le second OH est en *ortho* ou *para* du premier: *ortho* = *para*>*méta* ou *para*>*ortho*>*méta*. [94] Un troisième OH sur le cycle renforce également le caractère antioxydant (ex: acide gallique).
- Le groupement méthoxyle joue, dans une moindre mesure, le même rôle que les groupements OH.
- La présence de plusieurs unités de type acide phénolique peut concourir à renforcer l'activité antioxydante [95].

Les travaux sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical-cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+}) [96, 89] en comparaison avec celle du Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique) permettent d'estimer le paramètre TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Il est à noter que plus la valeur de TEAC est élevée, plus la molécule est active.

D'une manière générale, les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants : [97]

- 1- La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol).
- 2- La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.
- 3- La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3

Les flavonoïdes tels que la quercétine qui répondent à ces trois critères structuraux (schéma III-16), sont des piègeurs efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes (impliqués dans la peroxydation lipidique). Enfin, les flavonoïdes possédant une structure catéchol sur le cycle B, et en particulier la catéchine, sont des piègeurs du dioxygène singulet.

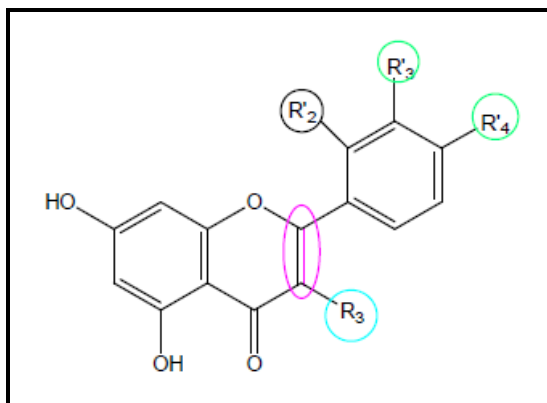


Schéma III-16. Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.

III-6 Propriétés thérapeutiques des polyphénols

III-6-1 Etudes épidémiologiques et propriétés biologiques *in vitro*

Les propriétés biologiques des polyphénols sont essentiellement établies *in vitro* et découlent de leur activité réductrice (effets anti- voire pro-oxydants) et de leur affinité pour une grande variété de protéines (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription).

L'une des premières propriétés reconnue aux flavonoïdes est d'être «veino-actifs» c'est-à-dire ayant la capacité de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance.

De nos jours, les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques et anti-cancer. Ils ont également des actions positives sur l'obésité, le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. Les catéchines du thé sont des inhibiteurs de l'angiogénèse *in vitro*.

Les activités biologiques des polyphénols ont souvent été évaluées *in vitro*, avec des protéines purifiées, des extraits cellulaires et des cellules entières en culture. Les propriétés biologiques des métabolites conjugués majoritairement présents dans le sang et les tissus ont en revanche été très peu étudiées, faute de disposer des standards commerciaux.

La signification de ces effets biologiques dans le domaine de la nutrition humaine est encore loin d'être établie d'autant qu'ils mettent presque toujours en jeu les formes natives ou aglycones de polyphénols et non pas les formes conjuguées circulantes. Pour progresser dans la démonstration *in vivo* des effets santé des polyphénols, une meilleure connaissance de la biodisponibilité des polyphénols (leur devenir après absorption éventuelle au travers

de la paroi intestinale) et une combinaison d'études cliniques pertinentes est indispensable. Le développement récent de nouveaux outils et méthodes pourrait permettre des avancées importantes dans les années à venir. C'est notamment le cas de la nutriginomique qui vise à mettre en évidence les gènes dont l'expression est régulée (à la hausse ou à la baisse) par les composants de l'alimentation. La difficulté réside ensuite dans l'analyse et l'interprétation de ces données biologiques complexes.

III-6-2 Effet antiallergique

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca^{2+} -dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca^{2+} -dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme [98].

III-6-3 Effet anti-inflammatoire

Sous l'action de la cycloxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Une étude de Landolfi et son groupe a montré que certains polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes [99]. Les effets de la quercétine et de la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cycloxygénase et la lipoxygénase. Cependant, à de faibles concentrations, seule la lipoxygénase est affectée. En revanche, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cycloxygénase.

La phagocytose qui accompagne une infection virale ou bactérienne est suivie d'une production d'espèces oxygénées réactives par les neutrophiles, ce qui va promouvoir l'inflammation. D'une manière générale, les espèces radicalaires, quelles que soient leurs origines, peuvent induire des dommages tissulaires, favoriser le processus

de vieillissement, voire être à l'origine de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose [100]. Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles [101].

III-6-4 Effet anti-ulcère

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production leucotriènes [102].

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcère de la quercétine, la naringénine, la rutine et le kaempférol, et la production de PAF (*Platelet Activating Factor*) qui est un agent ulcérogène potentiel [103]. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

III-6-5 Effet anti-cancer

Présente dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale [104]. Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses [105]. La croissance cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes et la réduction des radicaux libres. [99]En effet, la catéchine augmente la résistance du collagène [106] et inhibe l'activité de la collagénase [107].

Les flavonoïdes ont montré des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon [108].

III-6-6 Autres activités biologiques

Les flavonoïdes peuvent aussi prévenir le développement du diabète en inhibant l'enzyme aldose réductase. Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques [109, 110, 111]. Certains flavonoïdes peuvent inhiber

l'athérosclérose et par conséquent réduire le risque des maladies cardiovasculaires [112, 113]. Les effets anti-viraux des flavonoïdes ont été également démontrés [114].

III-7 Propriétés pro-oxydantes des polyphénols

Certains polyphénols particulièrement réducteurs peuvent manifester une activité prooxydante en entrant dans des cycles redox qui génèrent des EOR [115-117]. Par exemple, l'acide gallique est capable de réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} , ou Cu^{2+} en Cu^+ , et ainsi d'enclencher la réaction de Fenton avec formation du radical hydroxyle (schéma III-17) [118-120]. Le peroxyde d'hydrogène nécessaire à la réaction est produit par autoxydation des ions de basse valence. Par leurs effets pro-oxydants, certains flavonoïdes peuvent promouvoir la dégradation oxydante de l'ADN.

La signification biologique de ces effets pro-oxydants est dépendante de la présence d'ions du fer libres, c'est-à-dire non liés aux protéines.

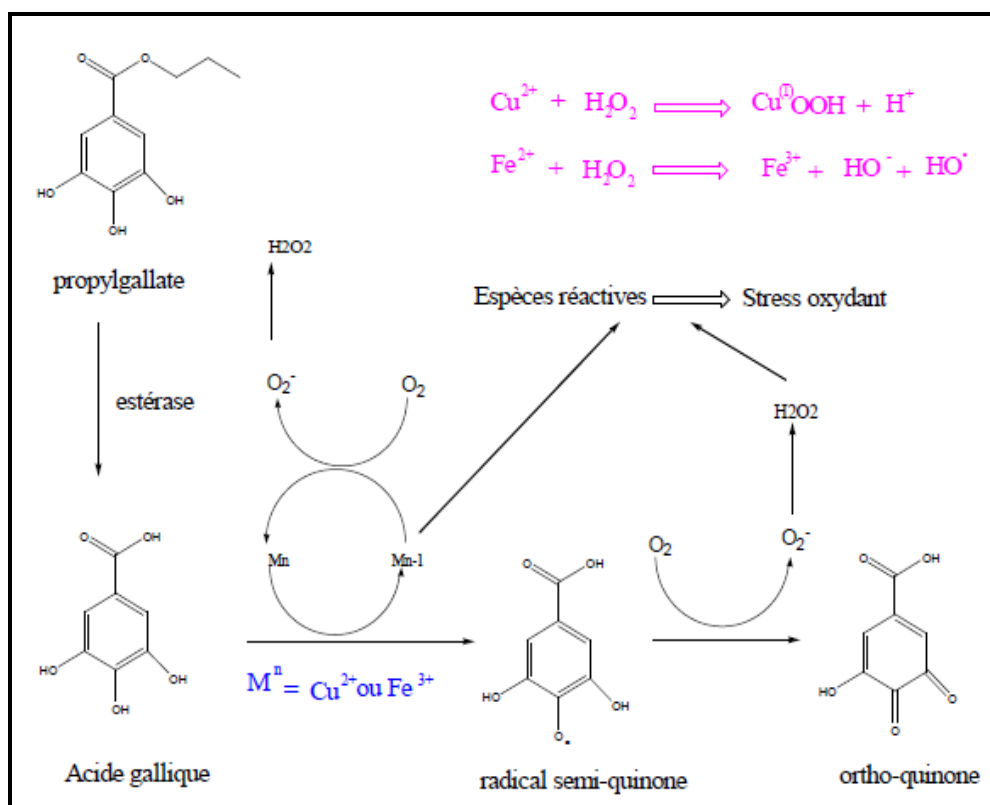


Schéma III-17. Mécanisme de formation d'espèces réactives par l'acide gallique, métabolite du propylgallate [57].

De plus, des effets indésirables ont été rapportés suite à l'administration de doses pharmacologiques chroniques de polyphénols excédant la dose moyenne absorbée via l'alimentation [121]. Ainsi, des cas de défaillance rénale, anémie, fièvre et réaction cutanée ont été relevés pour des doses allant de 1 à 1,5 g de flavonoïdes par jour.

Chapitre IV

Corrosion, Inhibiteurs

et

Méthodes électrochimiques

IV-1-Phénomène de la corrosion

Dans le secteur industriel, la corrosion des métaux est un fléau difficile à résorber totalement. Ainsi dans les pays industrialisés, elle fait l'objet des études spécifiques afin de remédier à quelques risques vécus. En revanche dans les pays en voie de développement, elle passe au second plan quand elle n'est pas totalement ignorée. Il en résulte un gaspillage énorme dû au remplacement des unités de production bien avant leur durée de vie normale.

IV-1-1-Définition de la corrosion

C'est une interaction physico-chimique entre un métal et son milieu environnant. Elle entraîne des modifications dans les propriétés du métal et souvent une dégradation fonctionnelle du métal lui-même, de son environnement ou du système technique constitué par les deux facteurs. On appelle cet environnement « électrolyte », car il a sa conductivité propre pour le transfert d'électron [122].

La corrosion est peut être vue sous sa forme globale comme une réaction spontanée d'échange d'électron à l'interface Métal/Environnement. C'est un phénomène naturel qui tend à faire retourner les métaux à leur état d'oxydes par une attaque plus au moins rapide du milieu corrosif [123].

IV-1-2-Interface électrolyte-solide

Dans tous processus électrochimiques, on relève plusieurs types de phénomènes associés à un transfert de charge électrique aux interfaces formées par la mise en contact d'électrodes (conduction électronique) et d'un électrolyte (conduction ionique). Lors de ce transfert de charge, on assiste à une transformation chimique : l'oxydoréduction (Schéma IV-1).

Ces réactions d'oxydation et de réduction obéissent au schéma réactionnel suivant :



Le potentiel d'équilibre à l'interface électrode/électrolyte est défini par la loi de Nernst (équation (I)) :

$$E_{Eq} = E^0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{C_{Ox}^{sol}}{C_{Red}^{sol}} \quad (I)$$

Avec :

E^0 constante appelée potentiel standard apparent (thermodynamique), caractéristique du système considéré,

F constante de Faraday (9,65.104 C/mol), n nombre d'électrons échangés,

n est le nombre d'électrons transférés dans la demi-réaction,

R constante des gaz parfaits (8,31 J/K/mol),

T température absolue,

C_{OX}^{sol} et C_{Red}^{sol} les concentrations des espèces Ox et Red en solution.

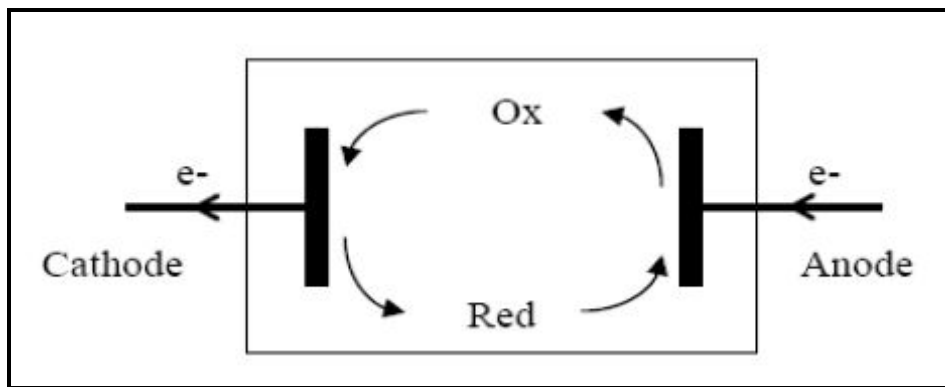


Schéma IV-1. Réaction d'oxydoréduction et transport du courant dans une chaîne électrochimique.

IV-1-3-Les Types de la corrosion

La corrosion peut se développer suivant différents processus qui caractérisent chacun un type de corrosion [124, 125].

La corrosion chimique

Il s'agit d'une réaction purement chimique entre la surface d'un matériau et un gaz ou un liquide non électrolyte. Par exemple, l'oxydation de l'acier ordinaire à haute température par l'oxygène de l'air est une corrosion chimique.

La corrosion électrochimique

C'est une réaction électrochimique entre la surface d'un matériau et un milieu électrolytique. Cette réaction est accompagnée de la formation de piles qui sont le siège

de circulation de courant électrique. La dégradation de l'aluminium par l'acide sulfurique dilué appartient à ce type de corrosion.

La corrosion biochimique

C'est l'attaque bactérienne des matériaux métalliques, en particulier dans les canalisations enterrées et les réservoirs. En effet, le métabolisme du développement de certaines bactéries provoque la formation d'acide sulfurique qui attaque le métal.

La corrosion accompagnée d'usure

Lorsque les produits de corrosion forment un dépôt adhérent et continu sur la surface du métal, ils ralentissent la vitesse de corrosion. Cette couche peut être éliminée en certains points par usure, abrasive ou érosive. Il y a alors accélération de la corrosion parce que la surface du métal est mise à nu.

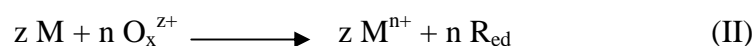
IV-1-4-Les formes de la corrosion

Plusieurs formes de corrosion peuvent être dénombrées, caractérisées par des modifications de propriétés physiques du métal [125], [126], [127].

La corrosion uniforme

La corrosion uniforme est une perte de matière plus ou moins régulière sur toute la surface. Le métal dans ce cas est dans l'état actif. Elle est aisément contrôlable par des mesures de perte de poids ou la diminution d'épaisseur du métal.

D'un point de vue pratique, le couplage d'une ou plusieurs réactions d'oxydation d'un métal ou alliage, avec une ou plusieurs réactions de réduction d'espèces en solution, conduit à l'obtention d'un potentiel « mixte » de corrosion, appelé aussi potentiel libre. La totalité de la surface du métal prend cette valeur du potentiel qui est le siège d'une corrosion généralisée (hypothèse de Wagner-Taurde), décrite par la réaction (II) suivante :



M désigne le métal et M^{n+} l'ion correspondant ; O_x^{z+} l'oxydant et R_{ed} l'espèce réductrice associée.

La réaction anodique(III) correspondante à la dissolution du métal :

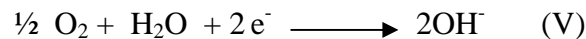


Le cation dissout peut ensuite se présenter sous différentes formes ou encore former des liaisons plus complexes. La réaction cathodique, quant à elle, varie suivant la nature des espèces oxydantes présentes en solution. Le phénomène cathodique le plus fréquemment rencontré est la réaction (IV) de réduction du proton H^+ (ou H_3O^+) en milieu acide :

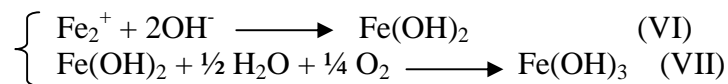


La corrosion se développe infiniment tant qu'elle n'est pas limitée par l'appauvrissement en protons aux pH élevés, ou par la saturation du milieu au voisinage de la surface, en ions Fe^{2+} , qui entraîne la formation d'un dépôt protecteur par précipitation d'hydroxydes ferreux aux pH basiques et limite en général la corrosion.

Dans les solutions aqueuses aérées peu acides, neutres ou basiques, la réaction cathodique la plus importante est la réduction de l'oxygène dissout :



Les ions Fe^{2+} de la réaction anodique s'hydrolysent pour former de l'hydroxyde ferrique $Fe(OH)_3$ selon :



Le composé $Fe(OH)_3$ qui se forme est alors très peu soluble et les produits de corrosion peuvent s'accumuler à la surface des métaux. A la suite de la formation de ces dépôts de produits de corrosion, les conditions locales sont considérablement modifiées et le mécanisme d'endommagement peu évalué.

La corrosion par piqûres

La corrosion par piqûres est caractérisée par une attaque très localisée en certains points de la surface et provoque des piqûres. Cette forme de corrosion est produite par certains anions, notamment les halogénures (chlorures...), sur les métaux protégés par un film d'oxyde mince. Elle induit typiquement des cavités de quelques dizaines de micromètres de diamètre. La corrosion par piqûres affecte en particulier les métaux ou les alliages passivés (aciers inoxydables, les alliages d'aluminium).

La corrosion galvanique

Ce type de corrosion résulte du couplage électrique de deux métaux différents et immergés dans la solution. La polarisation des surfaces métalliques par couplage galvanique a pour conséquence d'accroître la résistance à la corrosion de l'alliage le plus noble (la cathode) et de réduire la résistance à la corrosion de l'alliage le moins noble (l'anode). Elle résulte de la formation d'une pile qui conduit à une hétérogénéité de l'attaque.

La corrosion intergranulaire

Ce type de corrosion très dangereux parce qu'insoupçonné, la pièce corrodée ne semble pratiquement pas concernée, alors que sa résistance diminue considérablement. Elle consiste en la dissolution sélective d'un élément d'un alliage, les autres éléments restent non attaqués. Le métal devient poreux et perd sa résistance.

La corrosion caverneuse

La corrosion caverneuse est due à la différence d'accessibilité de l'oxygène entre deux parties d'une structure créant ainsi une pile électrochimique. Cette attaque sélective du métal est observée dans les fissures et autres endroits peu accessibles à l'oxygène. Souvent, la corrosion caverneuse est associée à la présence de petits volumes de solution corrosive stagnante, dûs à la présence de cavités, surfaces jointives ou dépôts discontinus.

La corrosion filiforme

Ce type de corrosion est souvent associé à la présence d'un revêtement protecteur (peinture, vernis, ...) semi perméable à l'oxygène et à l'eau. L'attaque se manifeste par des filaments émis dans toutes les directions, à partir des défauts du revêtement, qui peut affecter divers matériaux tels que le fer et l'aluminium lorsqu'ils sont soumis à des atmosphères humides entre 20°C et 30°C. L'oxygène et l'eau sont les réactifs nécessaires au développement de la corrosion filiforme [127, 128].

La corrosion sous contraintes

La corrosion sous contraintes est une fissuration du métal qui résulte de l'action commune d'une contrainte mécanique et d'une réaction électrochimique.

Le processus se déroule en deux phases successives :

- Une phase d'initiation qui correspond à la formation d'un défaut local en surface (piqûre),
- Une phase de propagation dans laquelle la piquûre devient fissure et progresse jusqu'à la rupture.

Ce processus dépend essentiellement de l'intensité des contraintes imposées, de la nature du matériau (composition chimique et structure), de l'état de surface et du milieu corrosif et de la température.

IV-2-Lutte contre la corrosion par utilisation des inhibiteurs

IV-2-1-Définition

Les inhibiteurs de corrosion constituent un moyen de lutte original contre la corrosion des métaux. L'originalité vient du fait que le traitement anticorrosion ne se fait pas sur le métal lui-même mais par l'intermédiaire du milieu corrosif.

Selon la norme ISO 8044, un inhibiteur est une *“substance chimique ajoutée au système de corrosion à une concentration choisie pour son efficacité ; celle-ci entraîne une diminution de la vitesse de corrosion du métal sans modifier de manière significative la concentration d'aucun agent corrosif contenu dans le milieu agressif”* [129].

La définition d'un inhibiteur de corrosion n'est pas unique. Celle retenue par la *“National Association of Corrosion Engineers (NACE)”* est la suivante : *“un inhibiteur est une substance qui retarde la corrosion lorsqu'elle est ajoutée à un environnement en faible concentration ”* [130].

IV-2-2-Propriétés et classes d'inhibiteurs

Partant de cette définition, un inhibiteur de corrosion doit donc vérifier un certain nombre de propriétés fondamentales : abaisser la vitesse de corrosion du métal tout en conservant les caractéristiques physico-chimiques de ce dernier ; être stable en présence d'autres constituants en particulier vis-à-vis de certains biocides ; être stable dans le domaine de températures utilisé ; être efficace à faible concentration ; peu onéreux par rapport aux économies qu'il permet de réaliser et finalement, être compatible avec les normes en vigueur de non-toxicité et de protection de l'environnement.

Il existe plusieurs façons de classer les inhibiteurs de corrosion. Généralement, ils sont classés en fonction de leur domaine d'application, de la formulation des produits (inhibiteur organique, inhibiteur inorganique), de la réaction électrochimique inhibée (inhibiteur cathodique, inhibiteur anodique ou mixte), ou du mécanisme réactionnel mis en jeu (adsorption et/ou formation d'un film) [129], [131-133]. Néanmoins, cette classification n'est pas tout à fait adéquate car un même inhibiteur peut présenter à la fois des caractéristiques propres à chaque groupe de classement.

A-Classification par milieu

Dans la classification relative au domaine d'application, on peut distinguer les inhibiteurs de corrosion utilisés en milieux aqueux, organiques ou gazeux [131].

Milieux aqueux

Ceux utilisés en milieux aqueux sont choisis en fonction du pH du milieu : en milieu acide, ils sont utilisés afin d'éviter l'attaque chimique de l'acier lors d'une opération de décapage ou de détartrage et en milieu neutre/alcalin, ils sont souvent utilisés pour protéger les conduites des circuits de refroidissement.

Milieux organiques

Les inhibiteurs utilisés en milieu organique sont incorporés dans les lubrifiants pour moteurs, dans l'essence ou dans les peintures.

Milieux gazeux

Les inhibiteurs en phase gazeuse sont employés pour protéger les objets métalliques pendant leur transport et stockage. Pour cela, des composés organiques ayant une pression de vapeur élevée sont souvent utilisés.

B-Classification par domaine d'application

Dans la classification relative à la formulation des produits, on peut distinguer les inhibiteurs organiques et les inhibiteurs minéraux [130-132].

Les inhibiteurs organiques

Les inhibiteurs organiques sont généralement utilisés en milieu acide ; cependant, en raison de leur écotoxicité, ils sont de plus en plus utilisés en milieu neutre/alcalin. Les inhibiteurs organiques sont généralement constitués de sous-produits de l'industrie pétrolière. Ils comportent une partie non polaire, hydrophobe, constituée d'une ou plusieurs chaînes hydrocarbonées et une partie polaire, hydrophile, constituée d'un ou plusieurs groupes fonctionnels : *amine* (-NH₂), *hydroxyle* (-OH), *mercapto* (-SH), *phosphonate* (-PO₃H₂), *sulfonate* (-SO₃H), *carboxyle* (-COOH) et leurs dérivés (les groupes fonctionnels usuels, permettant de se fixer sur la surface du métal).

Les inhibiteurs minéraux

Les inhibiteurs minéraux sont utilisés en milieu neutre/alcalin mais rarement en milieu acide. Ce sont souvent leurs produits de dissociation (anion ou cation) qui sont efficaces en tant qu'inhibiteurs de corrosion. Parmi les anions inhibiteurs, on trouve les chromates, les phosphates, les molybdates, les nitrates, les nitrites, les silicates, etc... et parmi, les cations inhibiteurs on trouve essentiellement les ions Ca^{2+} et Zn^{2+} .

Les inhibiteurs minéraux sont de moins en moins utilisés en raison de leur toxicité. Leur emploi se limite à certains systèmes en circuit fermé.

C- Classification par mécanisme d'action

Dans la classification relative au mécanisme d'action électrochimique, on peut distinguer les inhibiteurs anodiques, cathodiques ou mixtes [131].

Les inhibiteurs anodiques

Les inhibiteurs anodiques diminuent la densité de courant de dissolution du métal et déplacent le potentiel de corrosion dans le sens positif. Ce type d'inhibiteurs doit être utilisé en quantité suffisante car dans le cas contraire, ils peuvent accentuer la corrosion des zones non protégées.

Les inhibiteurs cathodiques

Les inhibiteurs cathodiques, en revanche, diminuent la densité de courant de réduction du solvant et déplacent le potentiel de corrosion dans le sens négatif. Du fait de leur mode d'action, les inhibiteurs cathodiques sont considérés comme plus sûrs que les inhibiteurs anodiques car ils ne risquent pas de favoriser la corrosion localisée.

Les inhibiteurs mixtes

Les inhibiteurs mixtes diminuent la vitesse des deux réactions partielles en modifiant peu le potentiel de corrosion.

D-Classification par mécanisme réactionnel mis en jeu

Dans la classification liée au mécanisme réactionnel mis en jeu en fonction de leur mode d'action, on peut distinguer différents types d'inhibiteurs : ceux agissant par adsorption, par passivation ou par précipitation [129, 131, 133].

Adsorption

Les inhibiteurs agissant par adsorption sont en général les inhibiteurs organiques. Ils empêchent l'action du milieu agressif en se fixant sur la surface du métal. Leur fixation se fait principalement par la fonction active de l'inhibiteur ; cependant, les parties polaires peuvent être également adsorbées. Ceux qui agissent par adsorption chimique s'avèrent souvent plus efficaces que ceux agissant par adsorption physique, car le partage des électrons renforce la liaison entre le métal et l'inhibiteur. Généralement, en présence d'une chimisorption, la molécule inhibitrice agit comme donneur d'électrons alors que le métal agit comme accepteur d'électrons.

Passivation

Les inhibiteurs agissant par passivation sont en général les inhibiteurs minéraux. Ils provoquent la passivation spontanée du métal en renforçant la couche d'oxyde formée naturellement sur la surface du métal. Ils se réduisent sur les pores de la couche d'oxyde/hydroxyde plus ou moins protectrice qui se forme naturellement sur la surface du métal. L'ion chromate est un des inhibiteurs passivant par excellence mais son caractère cancérigène et sa forte toxicité réduisent notablement son utilisation.

Précipitation

Les inhibiteurs agissant par précipitation provoquent la formation d'un film superficiel constitué de sels minéraux ou de complexes organiques peu solubles formés lors de la précipitation des produits de réaction cathodique tout en bloquant la dissolution anodique. Il s'agit généralement de sels d'acide faible et de base forte comme les borates, les silicates, les phosphates, les polyphosphates et les sels de zinc.

IV-3-Méthodes électrochimiques

Les méthodes électrochimiques peuvent être classées selon deux groupes : les méthodes stationnaires et les méthodes non-stationnaires dites transitoires. D'un point de vue phénoménologique, la caractérisation de l'adsorption de composés est possible par le suivi dans le temps du potentiel en circuit ouvert. On obtient par cette mesure une caractérisation de la modification de l'interface métal/milieu. L'aspect plus quantitatif (tracé des courbes de polarisation, spectroscopie d'impédance) permet, quant à lui, d'accéder à des valeurs de paramètres physiques décrivant l'état du système (courant de corrosion, taux d'inhibition, capacité de double couche, résistance de transfert de charge,...).

Parmi les techniques stationnaires permettant d'étudier un système dans un état de pseudo-équilibre, on cite :

IV-3-1-Les courbes de polarisation

La détermination des courbes intensité-potentiel des matériaux en milieu corrosif est un outil fondamental de l'étude des phénomènes de corrosion. Elles donnent la variation de l'intensité du courant qui circule entre l'électrode à étudier et une électrode auxiliaire,

en fonction du potentiel imposé à l'électrode à étudier, repéré par rapport à une électrode de référence.

L'examen de ces courbes permet d'obtenir un grand nombre de renseignements sur le comportement du métal immergé dans le milieu électrolytique. Elle permet aussi de déterminer le mécanisme de corrosion (cinétique de transfert de charge, transfert de matière, adsorption des espèces sur l'électrode) et de distinguer l'influence de l'inhibiteur sur chacune des réactions élémentaires, anodique et cathodique, à l'électrode de travail [134]. Cependant, il importe de signaler que la forme des courbes et les potentiels qui les caractérisent sont très sensibles à un certain nombre de facteurs comme l'état de surface, l'électrolyte, la présence de traces d'impuretés dans le réactif [135].

Détermination de la densité du courant de corrosion

Dans la situation où les réactions opérant à l'électrode sont limitées par le transfert de charges, l'équation de Butler-Volmer (équation VIII) donne une relation entre la surtension étant définie comme l'écart entre le potentiel appliqué au système E et sa valeur à l'équilibre E_{eq} et la densité de courant J :

$$J(\eta) = J_a + J_c = J_{corr} \left(\exp\left(\frac{\alpha n \mathcal{F} \eta}{RT}\right) - \exp\left(\frac{-(1-\alpha) n \mathcal{F} \eta}{RT}\right) \right) \quad (\text{VIII})$$

Où :

n : nombre d'électrons mis en jeu

J : densité de courant global (A.cm⁻²)

α : coefficient de transfert électronique ($0 < \alpha < 1$)

η : surtension appliquée à l'électrode (V)

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

R : constante des gaz parfaits (8,314 J.mol⁻¹.K⁻¹)

T : température (K)

F : constante de Faraday (96450 C)

La densité de courant J est la somme de la densité de courant partiel anodique J_a et de la densité de courant partiel cathodique J_c . Par convention, la densité de courant anodique est positive ($J_a > 0$), et la densité de courant cathodique négative ($J_c < 0$).

On peut introduire dans l'équation précédente les coefficients de Tafel anodique a et cathodique c définis comme suit :

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

On obtient ainsi :

$$J(\eta) = J_{corr} \left[\exp\left(\frac{\eta}{\beta_a}\right) - \exp\left(-\frac{\eta}{\beta_c}\right) \right] \quad (\text{IX})$$

Représentation de Tafel

Afin de déterminer expérimentalement les paramètres cinétiques J_{corr} , a et c , une représentation logarithmique de la densité de courant est préférable, car elle met en évidence la relation linéaire entre le logarithme de J et la surtension η , lorsque cette dernière, en valeur absolue, est élevée. Dans ce cas, les coefficients de Tafel anodique et cathodique peuvent être définis selon les relations suivantes :

$$\beta_a = \frac{d\eta}{d \log J_a} \quad \text{et} \quad \beta_c = \frac{d\eta}{d \log J_c}$$

Quand la valeur absolue de la surtension est suffisamment grande, l'un des deux processus, anodique ou cathodique, domine l'autre. L'équation IX devient alors, pour le domaine anodique :

$$J(\eta) = J_{corr} \exp\left(\frac{\eta}{\beta_a}\right) \quad (\text{X})$$

Le logarithme donne :

$$\ln J(\eta) = \ln J_{corr} + \frac{\eta}{\beta_a} \quad (\text{XI})$$

En passant au logarithme de base dix, on obtient :

$$\log |J(\eta)| = \log |J_{corr}| + \frac{\eta}{2,303 \beta_a} \quad (\text{XII})$$

De façon analogue, pour le domaine cathodique, la relation XII qui relie le logarithme de la densité de courant à la surtension est définie par :

$$\log |J(\eta)| = \log |J_{corr}| - \frac{\eta}{2,303 \beta_c} \quad (\text{XIII})$$

Les dernières équations de Tafel décrivent les limites anodique et cathodique de l'équation de Butler-Volmer. L'inverse de la pente de ces droites permet de déterminer les coefficients de Tafel anodique a et cathodique c .

Pour une surtension nulle, ces relations deviennent :

$$\log J_a = \log |J_c| = \log J_{corr} \quad (\text{XIV})$$

L'intersection des droites de Tafel anodique et cathodique permet donc de déterminer la densité de courant de corrosion J_{corr} (Figure IV-1)

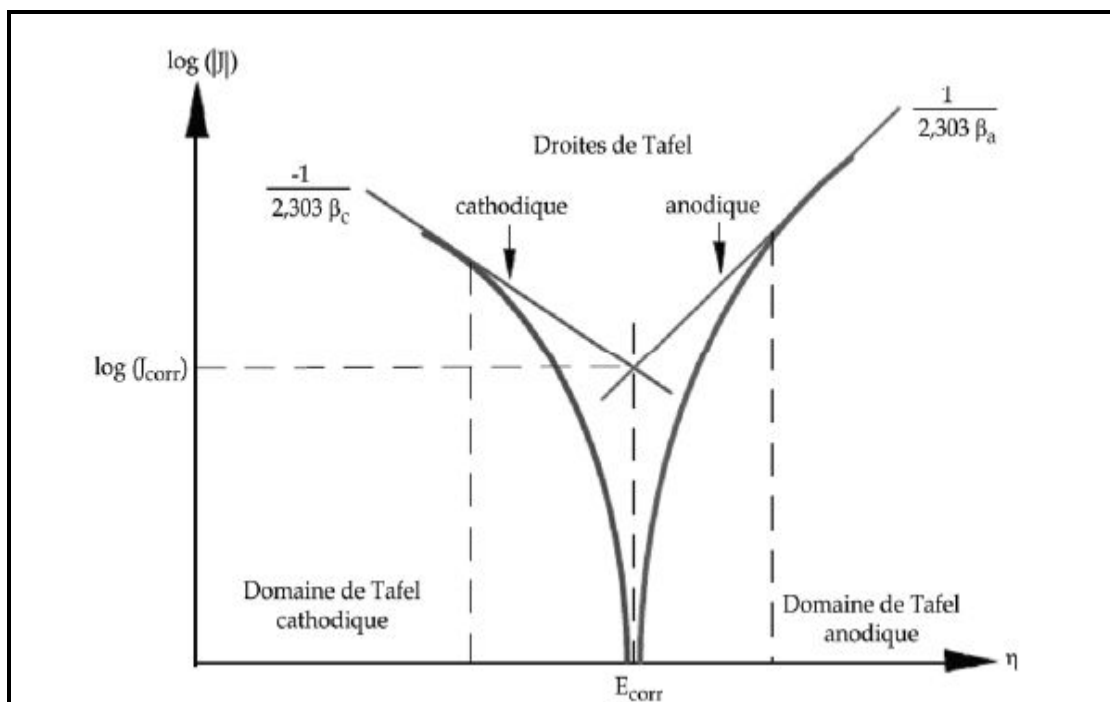


Figure IV-1. Représentation schématisée d'une courbe densité de courant - potentiel (coordonnées semilogarithmique) et des droites de Tafel.

A partir de la loi de Faraday, il est possible alors de définir une relation permettant d'estimer la vitesse de corrosion.

$$V_{\text{corr}} = i_{\text{corr}} \cdot t \cdot M / nF\rho$$

IV-3-2-La spectroscopie d'impédance électrochimique

Principe :

La méthode de spectroscopie d'impédance électrochimique fait appel aux analogies qui existent, sous certaines conditions de linéarité et de stabilité du système, entre une réaction électrochimique et un circuit électrique équivalent comportant des résistances et des capacités associées, suivant un schéma plus ou moins complexe qui dépend des différentes étapes intervenant au cours de la réaction [136]. Ce schéma électrique décrit alors le comportement de la chaîne électrochimique lorsqu'elle est soumise à une perturbation temporelle de l'intensité ou du potentiel, de pulsation $2f$, par l'intermédiaire de sa fonction de transfert, un nombre complexe, noté $Z(2f)$, qui dépend de la pulsation $2f$ (schéma IV-2).

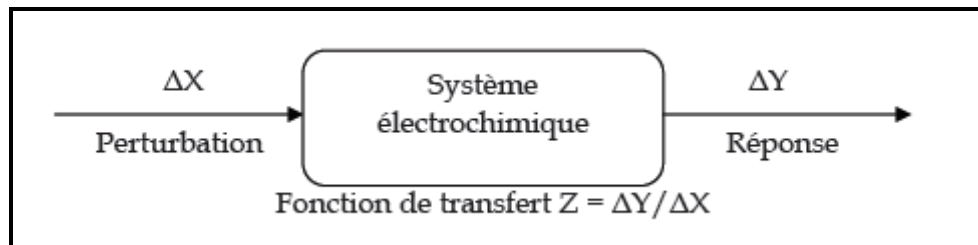


Schéma IV-2. Principe général de la spectroscopie d'impédance électrochimique.

Expérimentalement, cette méthode consiste donc à imposer, à une cellule électrochimique, une tension sinusoïdale E de pulsation $2f$ (ou un courant sinusoïdal I) et à mesurer le courant résultant I (ou la tension E). Au cours de cette étude, une perturbation en potentiel a été utilisée. La fonction de transfert correspond alors au rapport de la tension sur le courant à chaque fréquence f du potentiel sinusoïdal (Figure IV-2).

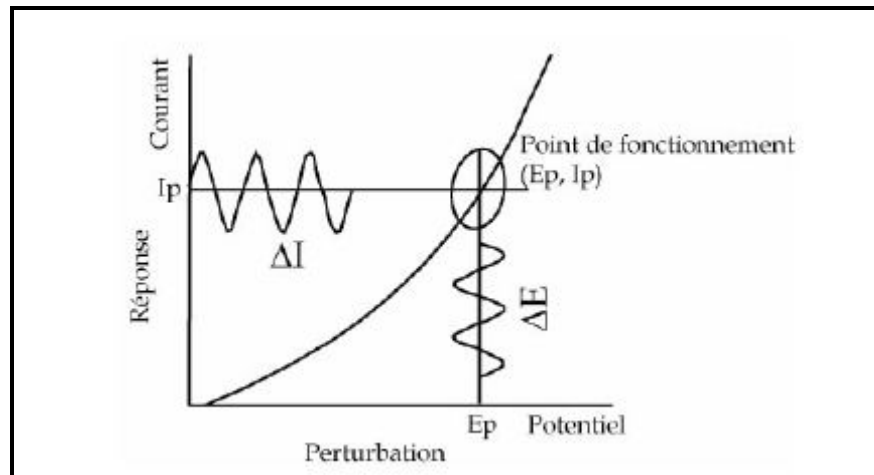


Figure IV-2. Schéma de fonctionnement de la SIE représentant la perturbation sinusoïdale en potentiel et sa réponse en courant [136].

Deux représentations graphiques de la fonction de transfert $Z(2f)$ sont couramment utilisées :

- L'une, en coordonnées cartésiennes, représente la partie imaginaire $-Im Z(2f)$ en fonction de la partie réelle de la fonction de transfert $Re Z(2f)$. Il s'agit de la représentation dans le plan de Nyquist.
- L'autre, dans le plan de Bode, représente le logarithme du module de la fonction de transfert $\ln [Z(2f)]$ ainsi que la phase en fonction du logarithme de la fréquence $\ln(f)$.

Seule la représentation dans le plan de Nyquist a ici été utilisée. L'interprétation des diagrammes permet de déterminer les différents processus qui ont lieu à l'électrode. Dans certains cas, notamment lorsque les constantes de temps des étapes élémentaires sont mal découplées, il est nécessaire de modéliser l'impédance du système électrochimique par celle d'un circuit électrique équivalent.

La partie suivante détaille les différents profils des diagrammes dans le plan de Nyquist qui peuvent être observés en corrosion, et, lorsque les processus opérant à l'interface métal/électrolyte ne sont pas trop complexes, un circuit équivalent, qui permet de modéliser le diagramme, est proposé.

Interprétation des diagrammes de Nyquist

Transfert de charge

La plupart des modèles définissant l'interface électrolyte/électrode considèrent que le courant faradique I_F et le courant de charge de la double couche I_C peuvent être dissociés dans l'expression globale du courant I traversant le système, soit :

L'interface peut être représentée, dans le cas de perturbations de faibles amplitudes, par un arc de cercle dans le plan de Nyquist, et être modélisée par un circuit électrique équivalent, dit de Randles (figure IV-3) [137], [138].

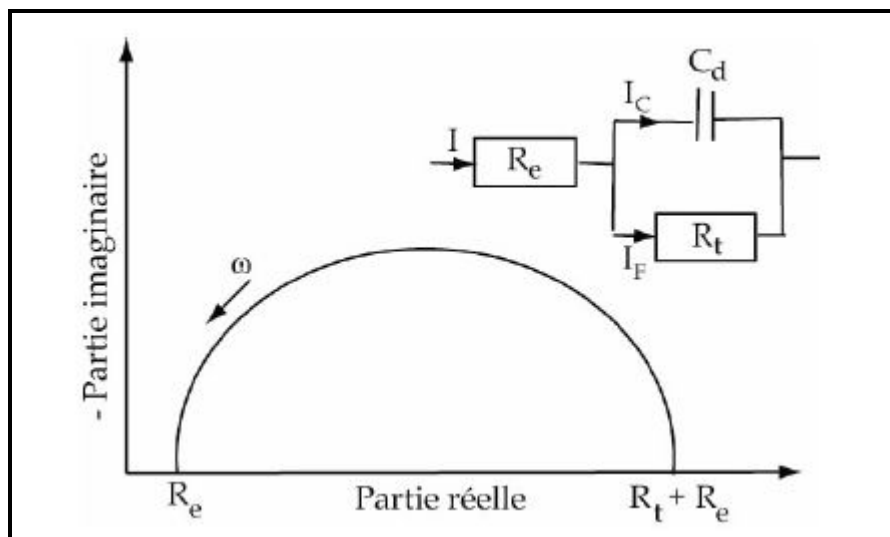


Figure IV-3. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, dans le cas d'un processus de transfert de charge et circuit électrique équivalent [139].

La résistance R_e du circuit de Randles correspond à la résistance de l'électrolyte de conductivité finie. Dans le milieu d'étude choisi, la concentration en ions sulfate est suffisamment importante pour assurer une bonne conductivité de l'électrolyte et ainsi obtenir une valeur de R_e faible. Sur le diagramme de Nyquist, lorsque la fréquence tend vers l'infini (), la valeur de l'impédance totale du système correspond uniquement à la résistance de l'électrolyte.

Le phénomène de charge de l'interface électrode/solution provoque l'apparition d'un courant capacitif (représenté par la capacité notée C_d). La résistance de transfert de charges R_t est, quant à elle, traversée par le courant faradique. En absence de toute autre réaction que le transfert électronique, R_t est identifiée à la résistance de transfert de charge.

Hétérogénéités de surface

Dans certains cas, la modélisation, par un circuit électrique équivalent, de la boucle capacitive en hautes fréquences est difficile à cause de la présence d'hétérogénéités à la surface de l'électrode. Les sites de réaction ne sont alors pas uniformément distribués et le demi-cercle représentant la résistance de transfert de charges et la capacité de la double couche dans le plan de Nyquist est aplati (figure 6). La modélisation du comportement de la double couche par une capacité devient imparfaite. Il convient alors d'ajouter à cette capacité une constante de temps, nommée élément de phase constante (CPE), qui est représentée par la valeur n . Si n est proche de 0, la CPE représente une résistance, si elle est proche de -1, le comportement est celui d'une inductance et enfin pour $n = 0,5$, le résultat est équivalent à l'impédance de diffusion de Warburg [140].

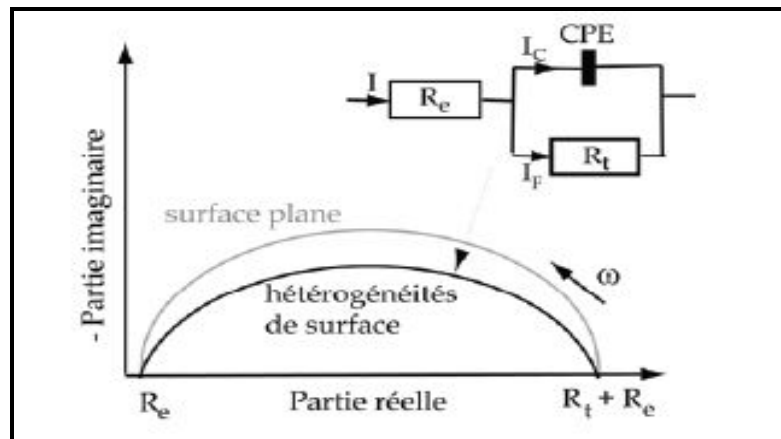


Figure IV-4. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique d'une électrode de surface hétérogène et circuit électrique équivalent [140].

Diffusion dans une couche d'épaisseur infinie

Lorsque le transport de matière à l'intérieur d'une couche d'épaisseur infinie limite l'oxydation de l'alliage, l'impédance, dans le plan de Nyquist, est représentée par une boucle capacitive, liée au transfert de charge, pour les hautes fréquences et par une droite formant un angle de 45° avec l'axe des abscisses pour les basses fréquences (figure IV-5). Celle-ci correspond à la diffusion des espèces à travers la couche d'épaisseur infinie (à travers l'électrolyte immobile par exemple).

Le schéma électrique de l'impédance totale correspond à une capacité (celle de la double couche, C_d) en parallèle avec l'impédance de diffusion, W , montée en série avec la résistance de transfert de charge, R_t .

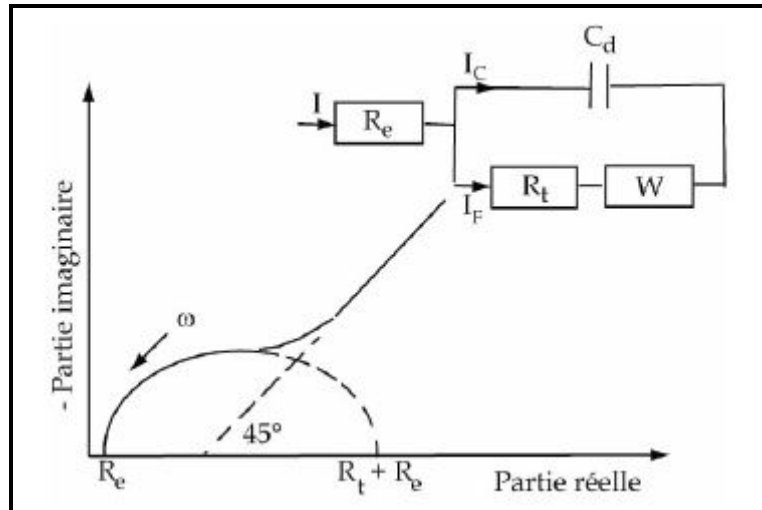


Figure VI-5. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, dans le cas où la diffusion à travers une couche infinie est le processus limitant la corrosion et circuit électrique équivalent [139].

Electrode poreuse

Lorsque la couche formée à l'interface métal/électrolyte est poreuse, la diffusion à travers cette dernière peut être le processus limitant. Dans ce cas, le diagramme d'impédance représenté dans le plan de Nyquist présente une droite de diffusion en hautes fréquences, qui forme un angle de $22,5^\circ$ avec l'axe des abscisses (figure IV-6) [142].

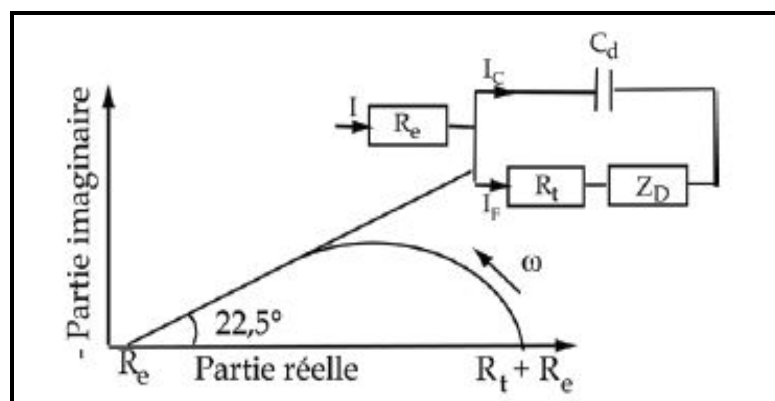


Figure VI-6. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, d'une électrode poreuse et circuit électrique équivalent.

L'impédance de Warburg, W , est alors remplacée dans le circuit électrique équivalent, par l'impédance de diffusion à travers des pores macroscopiques, notée ZD [143].

Cette grandeur tient compte de l'épaisseur de la couche de diffusion ainsi que du coefficient de diffusion de l'espèce diffusante à travers la couche. L'allure du diagramme d'impédance peut également donner des informations sur la géométrie des pores de la couche [144]. Cependant, la modélisation de la géométrie des pores est complexe.

Etape d'adsorption

Dans les processus de corrosion, une étape intermédiaire d'adsorption d'une espèce peut avoir lieu à l'électrode. Celle-ci se manifeste sur le diagramme d'impédance, représenté dans le plan de Nyquist, par une boucle inductive (figure IV-7) [145]. Elle est modélisée par une résistance R et une inductance L en parallèle avec le circuit de Randles [146].

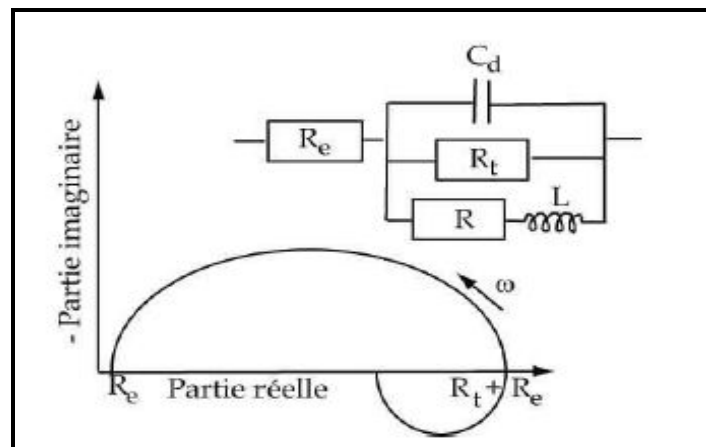


Figure IV-7. Représentation, dans le plan de Nyquist, de l'impédance électrochimique, d'une espèce adsorbée à la surface d'une électrode et schéma électrique équivalent [147].

Les processus lents, par exemple la diffusion, sont représentés en basses fréquences. Ainsi, une boucle inductive présente en basses fréquences signifie que le processus d'adsorption est limité par la diffusion.

IV-3-3-La Voltamétrie cyclique

La voltammétrie cyclique est la technique la plus largement utilisée pour acquérir des informations qualitatives sur les réactions électrochimiques. L'avantage de la voltammétrie cyclique résulte de sa capacité à obtenir rapidement des informations sur les processus redox, sur la cinétique des réactions de transfert électronique hétérogène, des réactions chimiques couplées, ou encore des processus d'adsorption. De plus, elle est très employée pour la caractérisation de nouveaux systèmes et l'étude de réactions complexes.

Principe

Comme illustré sur la Figure IV-8, elle consiste en l'application d'un balayage linéaire de potentiel jusqu'à une borne supérieure (balayage aller), puis d'une inversion de celui-ci, tout en conservant la même vitesse de balayage, jusqu'à une borne inférieure de potentiel (balayage retour). Le potentiel est fonction de la vitesse de balayage des potentiels (r) et du temps (t) :

$$E = E_i \pm rt$$

E_i désigne le potentiel initial, ou potentiel de départ.

Dans la plupart des cas, celui-ci est choisi égal au potentiel à intensité nulle ($E_{I=0}$) afin de s'assurer qu'aucune réaction électrochimique n'ait lieu au début du tracé de la courbe intensité-potentiel.

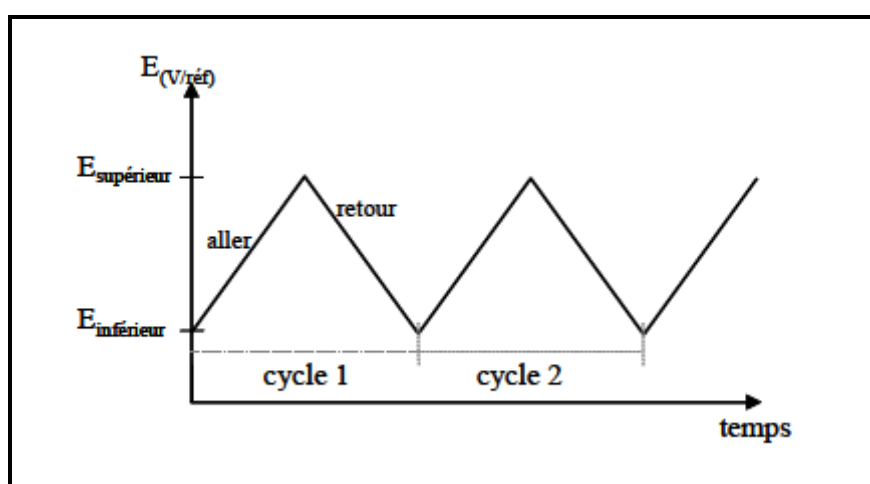


Figure IV-8. Evolution du potentiel en fonction du temps en voltammétrie cyclique

La détermination expérimentale de la relation entre le courant et le potentiel d'électrode se traduit par l'obtention des figures appelées voltammogrammes. (Figure IV-9)

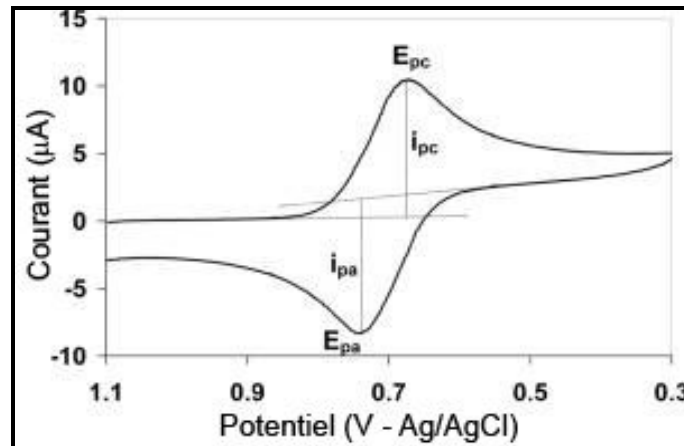


Figure IV-9. Aspect général d'un voltampérogramme.

Les coordonnées (E_p , i_p) du pic de voltammétrie donnent des indications sur :

- Le mécanisme de la réaction électrochimique
- La concentration des espèces

La courbe enregistrée lors d'une expérience de voltampérométrie cyclique présente l'allure d'un pic et non d'une vague. L'observation d'un maximum trouve son origine dans l'établissement d'une couche de diffusion pénétrant ensuite dans le volume de la solution.

En effet, arrivée à une valeur de potentiel E_p , pour laquelle le transfert de masse est maximal, l'intensité du courant évolue selon $t_{1/2}$ car le transfert de masse ne parvient plus à compenser la consommation de substance électroactive à la surface de l'électrode.

Afin d'analyser les caractéristiques expérimentales obtenues sur nos systèmes, nous rappellerons simplement les expressions donnant les courants en régime de diffusion pure dans les trois cas possibles que nous pouvons rencontrer suivant les conditions opératoires adoptées : systèmes rapide, lent et quasi-rapide. Figure IV-10.

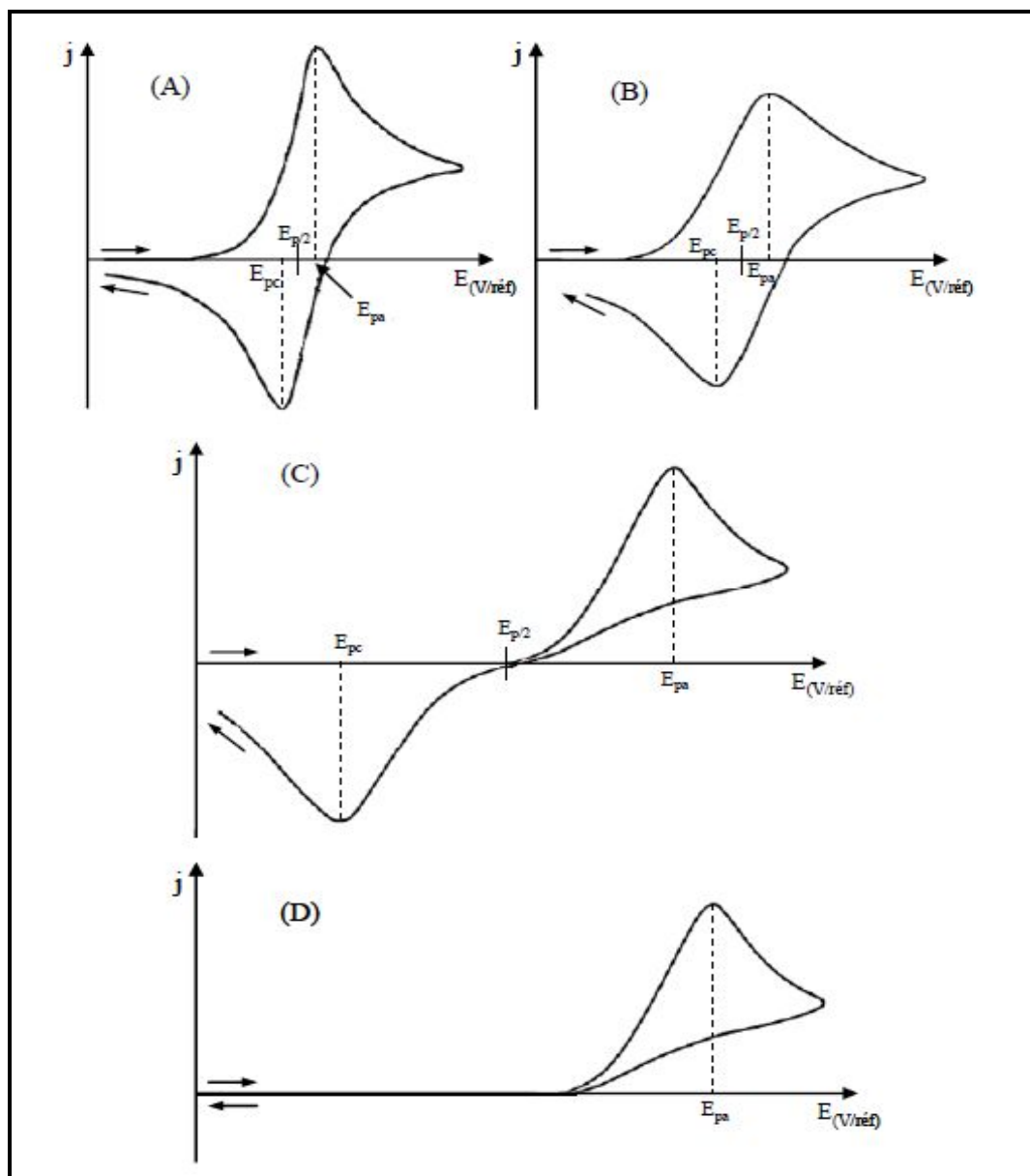


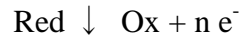
Figure IV-10. Voltammogrammes pour des systèmes : réversible (A), quasi réversible (B) et (C) et totalement irréversible (D)

Les conditions expérimentales de mise en oeuvre de cette technique sont l'utilisation d'un dispositif à trois électrodes immobiles et d'un électrolyte suffisamment concentré et non agité. Seul le transport par diffusion semi-infinie est alors à considérer. La convection naturelle est négligeable pendant le temps relativement court de la mesure.

Lors de l'application du potentiel, les espèces électroactives présentes à la surface de l'électrode s'oxydent (ou se réduisent) et l'intensité anodique (ou cathodique) augmente jusqu'à atteindre un maximum. Les courbes I-E ont donc la forme de pics (Figure IV-10). En effet, la concentration des espèces consommées à l'interface électrode / solution électrolytique diminue et, dans les conditions de diffusion linéaire semi-infinie, le courant après le pic diminue alors

comme $1/(.t)^{1/2}$ (loi de Cottrell). L'intensité du pic obtenu est proportionnelle à la concentration de l'espèce correspondante.

Par la suite, une réaction d'oxydation de type :



est considérée, avec uniquement l'espèce Red présente en solution au début de l'expérience.

Les avantages de la voltampérométrie cyclique

Parmi les principaux avantages de la voltampérométrie cyclique on peut citer :

- La rapidité des mesures.
- Les courbes obtenues peuvent être utilisées à des fins d'analyse pour déterminer la nature et la concentration des espèces oxydables ou réductibles présentes.
- La connaissance de l'évolution des voltampérogrammes lors d'une réaction permet d'en suivre le cours et ainsi de mettre au point, par exemple, des méthodes de détection ampérométriques ou potentiométriques.
- Les courbes Voltampérométrie peuvent aussi être utilisées pour mesurer des paramètres de cinétique : soit de cinétique électrochimique soit de cinétique chimique lorsqu'une réaction chimique se trouve couplée à une réaction électrochimique.
- L'étude de la réoxydation des produits formés à l'électrode [148].

Partie II

Partie Exp rimentale

Chapitre V

Mat riel et M thodes

V-1-Matériel

V-1-1-Matériel et équipement

Les équipements et conditions expérimentales de nos expériences sont indiqués dans l'annexe.

V-1-2-Matériel végétal

Les cosses (gousses égrenées) et les graines de l'*Acacia arabica* ont été collectées en septembre 2009, l'arbre est de la région d'Amsel, à 30 Km du centre de la wilaya de tamanrasset.

Le séchage des gousses a été effectué dans un endroit aéré sous l'ombre à une température ambiante, puis le stockage dans des sacs en tissu jusqu'à utilisation. Pour le broyage, il a été fait par le broyeur électrique, on a obtenu des poudres fines de couleurs marron et jaunâtre des cosses et graines respectivement. Ces poudres ont été utilisées pour les investigations phytochimiques mentionnées ci-après.

Identification de la matière première

Caractères morphologiques

Les gousses de l'*acacia arabica* sont droites, rugueuses et de couleur brun grisâtre.



Figure V-1. Gousses et graines de l'*Acacia arabica*.

Caractères organoleptiques

La poudre des gousses égrenées (cosses) de l'*Acacia arabica* est de couleur marron, d'odeur faible et de saveur astringente.

La poudre des graines de l'*Acacia arabica* est de couleur jaunâtre, d'odeur faible et de saveur astringente.

V-2-Méthodes

Notre étude a été guidée par la comparaison entre différents extraits de l'*Acacia arabica* par deux systèmes de solvants (hydroacétonique et hydrométhanolique) selon trois paramètres :

- Teneur en composés phénoliques (phénols totaux et flavonoïdes).
- Activité antioxydante des différents extraits (évaluée par méthodes chimiques et électrochimiques).
- Activité inhibitrice à la corrosion (comparaison entre deux extraits).

Notre démarche expérimentale est résumée à travers le diagramme suivant (schéma V-1) :

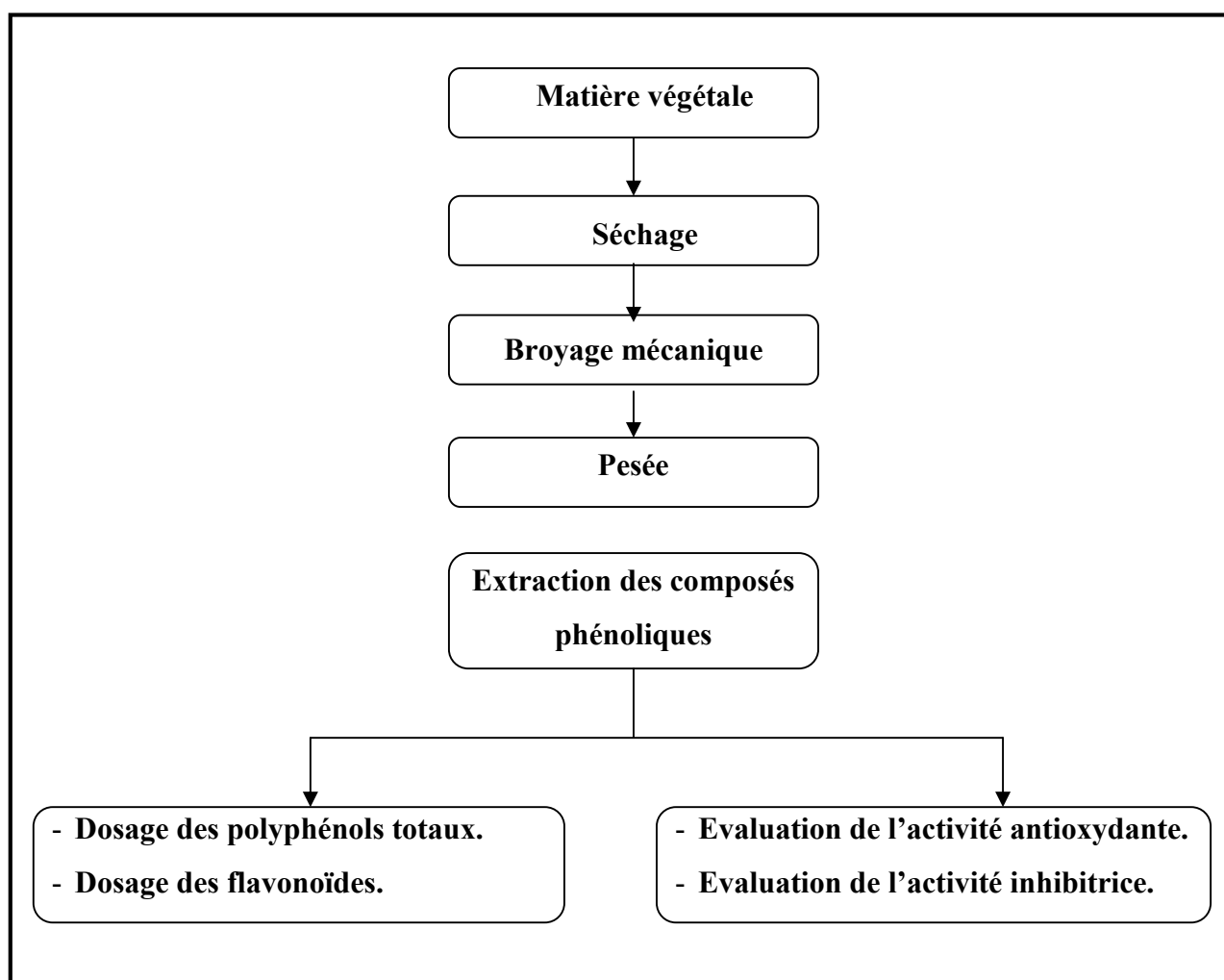


Schéma V-1. Représentation schématique des étapes de l'étude réalisée.

V-2-1-Extraction et analyse quantitative

1-Méthode d'extraction

La méthode d'extraction des composés phénoliques utilisée est celle d'Amiot (hertog et al. 1992) modifiée (Djeridane et *al.*, 2006). L'objectif de l'étape de l'extraction est de séparer les substances phénoliques de la poudre solide et de les faire passer en solution. Elle est réalisée en trois étapes :

Extraction des composés phénoliques

Les échantillons déjà séchés à l'abri de la lumière et à température ambiante, sont finement broyés. La poudre ainsi obtenue est ensuite macérée dans deux mélanges méthanol/eau (8 :2 V/V) et acétone/eau (7 :3 V/V) séparément, pendant 48 heures à température ambiante. Les extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques ont été récupérés dans un premier temps après filtration des mélanges, la phase aqueuse a été éliminée des filtrats par évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur. Permettant ainsi d'obtenir des extraits caractérisés par une couleur brune foncée pour ceux des cosses, et une couleur verte foncée pour ceux des graines qui sont considérés comme étant les extraits bruts des cosses et graines de l'*Acacia arabica*.

Dépigmentation

Cette étape appelée aussi élimination des lipides, consiste à faire passer les extraits bruts par une extraction liquide-liquide en utilisant l'éther de pétrole comme solvant d'extraction :

- Pour les extraits obtenus par macération dans le système méthanol/eau, les lipides ont été extraits en trois fois 120ml/120ml/60ml d'éther de pétrole.
- Pour les extraits obtenus par macération dans le système acétone/eau, les lipides ont été extraits en trois fois 180ml/180ml/90ml d'éther de pétrole.

Purification des composés phénoliques

Ensuite, les composés phénoliques ont été extraits par extraction liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle, en ajoutant des solutions de l'acide orthophosphorique et de sulfate d'ammonium au cours de l'extraction pour améliorer le rendement en composés phénoliques :

- Pour les extraits obtenus par macération dans le système méthanol/eau, les composés phénoliques ont été extraits en trois fois 120ml/60ml/40ml d'acétate d'éthyle.
- Pour les extraits obtenus par macération dans le système acétone/eau, les composés phénoliques ont été extraits en trois fois 120ml/60ml/40ml d'acétate d'éthyle.

Les fractions organiques ont été ensuite regroupées et séchées par l'addition de quelques grammes de sulfate de sodium anhydre et filtrées pour élimination totale des impuretés.

Après évaporation de l'acétate d'éthyle sous pression réduite à une température de 50°C, les résidus obtenus ont été solubilisés dans du méthanol et conservés avant de passer aux analyses. Les étapes de la préparation des extraits bruts et leur fractionnement sont schématisées dans le schéma V-2.

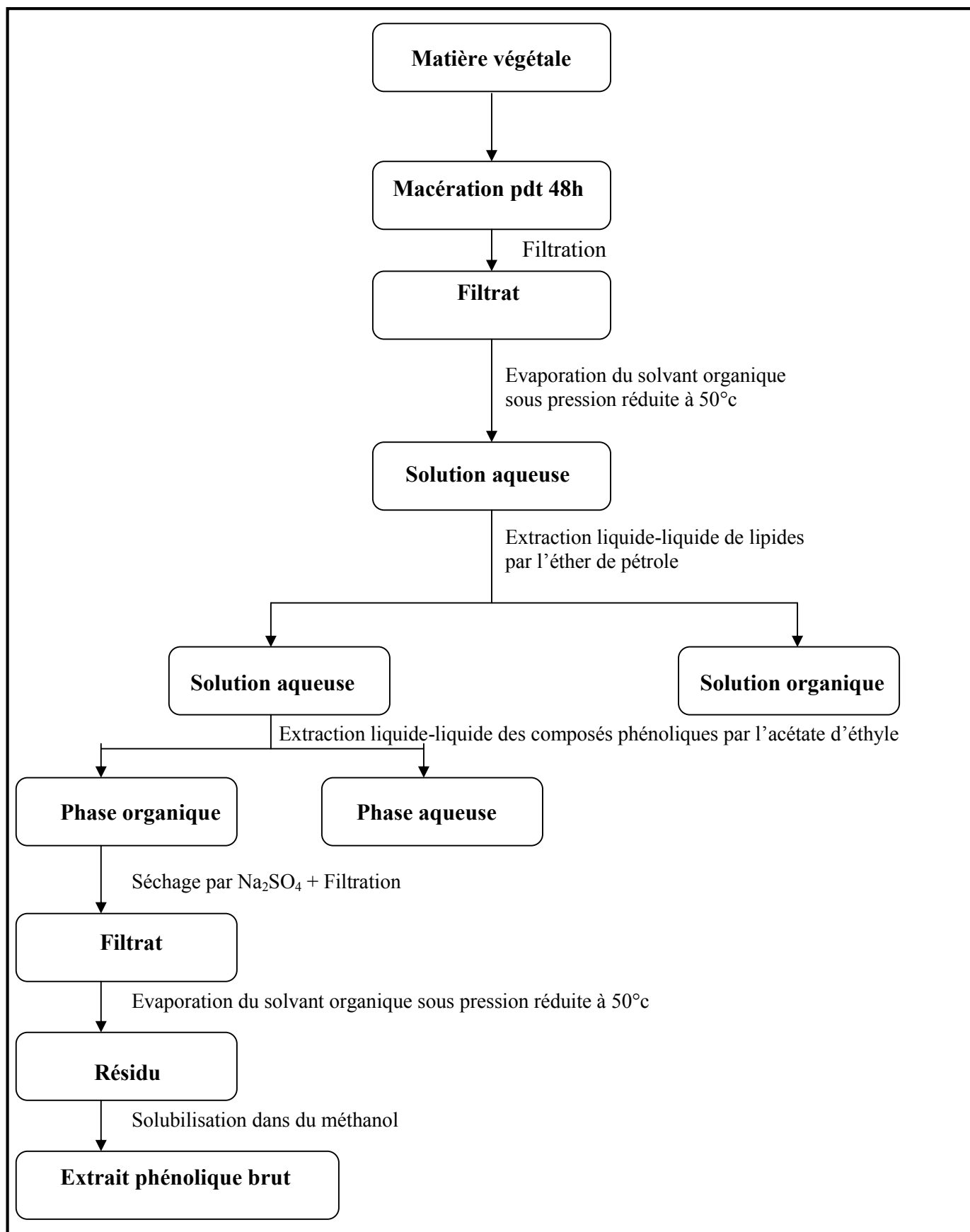


Schéma V-2. Extraction des composés phénoliques.

2- Analyse quantitative des composés phénoliques

a- Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross (en1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu [149]. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre de 760nm.

Procédure expérimentale

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations. 100µl de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après incubation pendant 2 minutes, 2ml de carbonate de sodium à 20% ont été ajoutés, puis les solutions ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760nm contre un blanc (même solution précédente à l'exception de l'extrait phénolique : l'acide gallique). Sur un spectrophotomètre.

Les lectures de la densité optique à 760nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par la même procédure.

b- Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Zishen et al [150] basée sur la complexation des flavonoïdes par l'aluminium en utilisant une solution de trichlorure d'aluminium comme réactif dans cette méthode.

Procédure expérimentale

La rutine a été utilisée comme étalon. Pour tracer la courbe d'étalonnage, Une solution de 0.2 g/l de rutine a été préparée dans le méthanol. Avec ce solution mère, on prépare une série des solutions diluées d'une concentration 0.01 jusqu'à 0.12 g/l. 1 ml de chaque solution ainsi préparé a été mélangé avec 1 ml d'une solution méthanoïque de chlorure de sodium ($AlCl_3$ 10%), en suite

on ajoute 1 ml d'une solution aqueuse d'acétate de sodium (CH_3COONa (0.1 N)). Les solutions ont été bien mélangées, puis ils sont maintenus à l'obscurité pendant 30 minutes à la température ambiante.

En utilisant les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues, on trace la courbe d'étalonnage de la rutine. La quantité des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée en suivant le même protocole décrit lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de la rutine.

V-2-2-Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Acacia arabica*

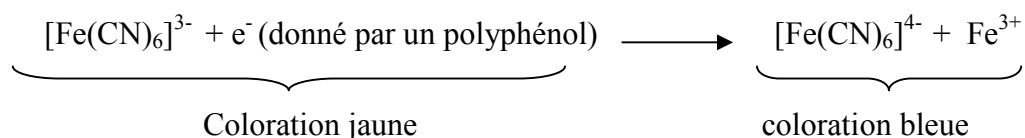
La mise en évidence de l'activité antioxydante de nos extraits, a été réalisée par trois tests chimiques et un test électrochimique. Pour les tests chimiques, on s'intéresse à mesurer le pouvoir réducteur des composés phénoliques dans nos extraits par la méthode RPA (Reducing Power Assay), Test de Molybdate Phosphate (PM) et le test du DPPH. Pour le test électrochimique : on mesure le pouvoir réducteur de l'oxygène par nos extraits en utilisant la méthode de la Voltamétrie cyclique.

1- Tests chimiques

a- Test de réduction du fer (FRAP: Ferric Reducing Assay of Plasma)

Ce test a été découvert par Oyaizu en 1986 [151]. Ce test est considéré comme un test direct et rapide pour la mesure du pouvoir réducteur des antioxydants, dans un milieu neutre.

Il est basé sur la réduction des ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ à des ions de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ qui donnent (avec la présence des ions Fe^{3+}) une coloration bleue claire, dont on peut mesurer l'absorbance à une longueur d'onde égale à 700nm, et ce par le mécanisme réactionnel suivant :



Procédure expérimentale

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide ascorbique de différentes concentrations. On prépare des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de concentrations allant de 0.01 jusqu'à 0.1 g/l. 1ml de chaque solution est introduit dans un tube à essai puis additionné de 2.5ml d'une solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%), 2.5ml d'une solution tampon

phosphatée. Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis ils se sont maintenus dans un bain marie pendant 30min à une température de 50°C, ensuite on ajoute de l'acide trichloracétique (TCA 10%). On prend de chaque tube 2.5ml et on ajoute 2.5ml d'eau distillée, 0.5 de solution de FeCl₃ (0.1%) [152].

L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 700nm contre un blanc, ces lectures ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique. Les différents extraits ont été traités de la même façon pour tracer les courbes représentantes de la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution.

Remarque : on prend l'acide gallique comme un standard comparatif.

b- Test de Molybdate Phosphate (PM)

Le test du pouvoir réducteur du Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la réduction des molybdates en Molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par la UV à une longueur d'onde de 695nm.

Procédure expérimentale

On prépare 100ml d'un mélange des trois solutions suivantes :

- 0.6M d'acide sulfurique
- 28 mM de phosphate du sodium
- 4 mM de molybdate d'ammonium

On prend 300µl des solutions préparées de l'acide ascorbique de concentrations allant du jusqu'à 1.2mM, on introduit ce volume dans un tube à essai, ensuite on ajoute 3ml de la solution préparée précédemment. Le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95°C pendant 90min. après refroidissement jusqu'à température ambiante on mesure l'absorbance à une longueur d'onde égale à 695nm [153].

Les différents extraits ont été traités de la même façon pour tracer les courbes représentantes de la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution.

Remarque : on prend l'acide gallique comme un standard comparatif.

c- Test du DPPH

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par Mansouri et al (2005) [154]. Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [155].

Procédure expérimentale

La solution de DPPH[•] est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH[•] dans 100 ml de méthanol. 1ml de chaque extrait phénolique dilué dans la solution tampon Tris (100mM, pH=7.4) est additionné à 1ml de la solution DPPH[•] préparée précédemment. Le mélange réactionnel est secoué immédiatement, puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min à une température ambiante pour que la réaction accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 517nm contre un blanc.

Les mesures de la diminution de l'absorbance du DPPH[•] provoquées par la présence des extraits après 30min ont permis de déterminer l'activité inhibitrice de différents extraits.

L'activité inhibitrice (I) a été exprimée en présence de différentes dilutions (I% en fonction de la concentration après 30min d'incubation à température ambiante à l'obscurité).

L'activité inhibitrice est déterminée en appliquant la formule suivante :

$$I (\%) = [1 - (A_{\text{extrait}} / A_{\text{témoin}})] * 100$$

Avec :

I (%) : activité inhibitrice en %.

A_{extrait} : absorbance de la solution de DPPH[•] en présence de l'extrait.

A_{témoin} : absorbance de la solution du DPPH[•] en absence de l'extrait.

2- Tests électrochimiques

a- Méthode de la voltamétrie cyclique

La voltamétrie est une technique d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation des composés tests présents en solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques), dont certains simultanément, et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés [156].

Procédure expérimentale

*Comportement électrochimique de l'électrolyte support:

Nous avons étudié le comportement électrochimique de l'électrolyte support TNBAPF_6 (0,1M) + N,N-diméthylformamide (DMF [H_2O] 0.005%) par la voltamétrie cyclique dans le domaine [-200, -1200mV] sur électrode en carbone vitreux (CV), après un traitement de la surface de l'électrode suivant le protocole défini (polissage, nettoyage chimique puis cyclage dans le solvant) pour voir s'il y a lieu de réduction dans le domaine du potentiel accessible [157].

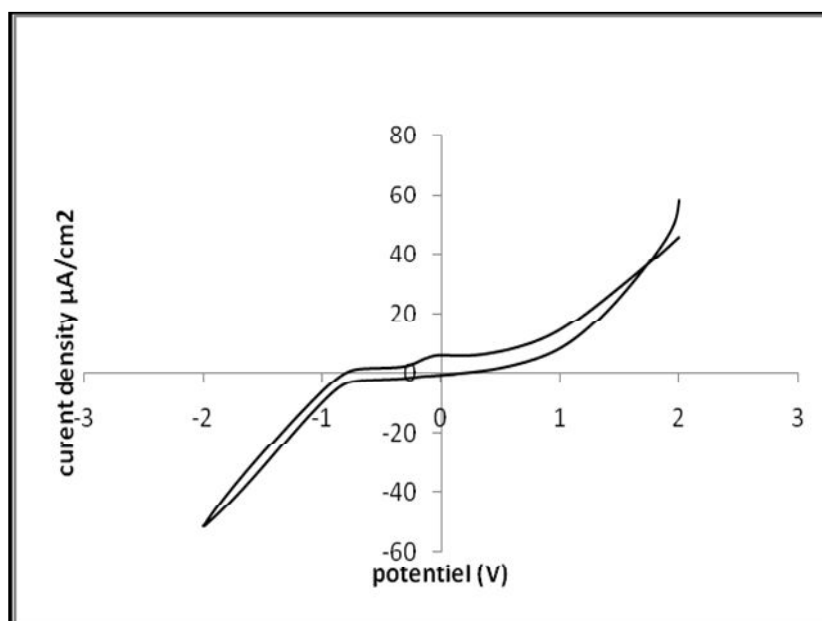


Figure V-2. Voltamogramme de réactivité du milieu électrolytique (milieu DMF, TNBAPF_6 0.1M ; Electrode Cv ; vitesse de balayage $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$; $T = 25^\circ\text{C}$)

L'étude par voltamétrie cyclique de l'électrolyte support après 15 min de barbotage dans l'azote avec une vitesse de 100 mV/s, montre qu'il n'y a aucune réponse électrochimique dans le domaine choisi (voir figure V-2).

**Voltamétrie cyclique de l'oxygène (Solution DMF seule)

On met 10 ml de la solution du DMF contenant de l'électrolyte support TBu_4NPF_6 (0.1M) dans la cellule ; puis on barbote pendant 5 min pour s'assurer de la solubilité de l'oxygène.

Le voltamogramme de réduction de l'oxygène est enregistré pour les mêmes conditions opératoires est montré dans la figure V-3.

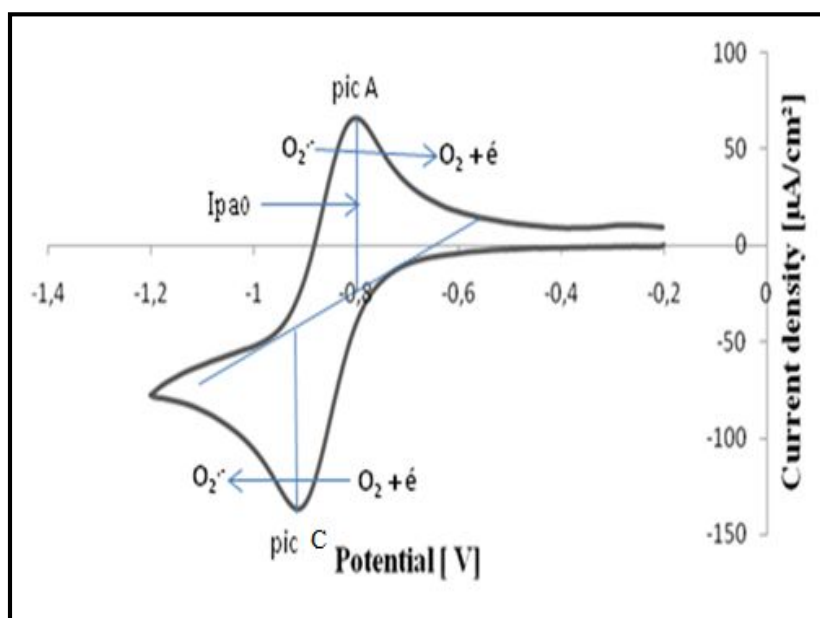


Figure V-3. Voltamogramme de réduction de O_2 (milieu DMF, NBu_4APF_6 0.1M ; Electrode Cv ; vitesse de balayage $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$; $T = 25^\circ\text{C}$)

***Voltamétrie cyclique de l'oxygène (en présence des extraits phénoliques)

Les dilutions des extraits phénoliques étudiés sont préparées à partir de la solution mère (l'extrait phénolique dissout dans le DMF), puis ajoutées à 10ml de la solution électrolytique (saturée en oxygène): par des additions successives de même volume (50 ou $100\mu\text{l}$ selon la concentration de l'extrait) et on enregistre les voltamogrammes afin d'étudier la variation de la concentration de l'oxygène dans le milieu en fonction de la concentration de l'extrait phénolique et ce par calcul de la valeur d' I_{pas}/I_{pa0} pour chaque voltamogramme.

b- Méthode d'extrapolation des droites de Tafel

Les courbes courant-tension stationnaires permettent d'estimer la vitesse de corrosion et d'appréhender la formation de couches protectrices et/ou de films inhibiteurs. Cet effet peut se caractériser sur ces courbes par l'invariance du courant sur un large domaine de surtension appliquée.

Inhibiteurs

Les inhibiteurs utilisés dans ce test sont : les extraits phénoliques C(Acétone) et C(Méthanol) de l'*acacia Arabica*.

Le milieu corrosif

Une solution d'HCl (1N) ses caractéristiques sont données dans l'annexe.

L'électrode de travail

L'électrode de travail utilisée est en acier XC52 (dont la composition chimique et la méthode de polissage sont montrées dans l'annexe) est découpée en petit disque cylindrique d'une surface active de 1cm².

Procédure expérimentale

Dans cette méthode galvanostatique, le potentiel de l'électrode est fixe à la valeur choisie pendant le temps nécessaire à la réalisation d'équilibre. L'intensité de courant est mesurée entre l'électrode de travail et le contre électrode.

L'électrode de travail est introduite dans un porte échantillon disposé en face à la contre électrode de platine Pt, 1cm² de la surface de l'électrode est en contact avec la solution agitée mécaniquement. Tous les potentiels sont référenciés à l'électrode en Calomel saturé (ECS). Le potentiel appliqué à l'échantillon varie entre -600 à -430mV. Le potentiel d'électrode de travail (ET) atteint sa stabilité après une durée de 30 min, les mesures peuvent être alors effectuées.

c- Méthode d'Impédance électrochimique

La mesure de l'impédance électrochimique permet la détermination des paramètres cinétiques des transferts électroniques ainsi que l'étude du mécanisme réactionnel dans le cas où la réaction électrochimique est accompagnée par d'autres processus élémentaires (réactions chimiques, adsorption,...) ayant lieu à l'électrode ou bien dans la couche de diffusion.

Les inhibiteurs, le milieu corrosif et l'électrode de travail

Ils sont les mêmes utilisés dans l'expérience des droites de Tafel.

Procédure expérimentale

Dans la méthode de spectrométrie d'impédance électrochimique, le potentiel imposé à l'électrode est fixe et égale à -495mV, les spectres d'impédance obtenus au potentiel de corrosion sont enregistrés après 30 min d'immersion pour différentes concentrations d'inhibiteurs.

L'électrode de calomel saturé (ESC) est une référence pour tous les potentiels, la fréquence appliquée varie entre 100KHz et 20mHz. L'efficacité inhibitrice est calculée à partir de l'équation suivante :

$$R\% = 1 - (C'_{dl}/C_{dl}).$$

Chapitre VI

R sultats et Discussion

VI-1-Résultats de l'analyse quantitative

a- Taux des phénols totaux

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure VI-1), et exprimée en milligrammes par gramme de la matière sèche équivalent en acide gallique. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VI-1.

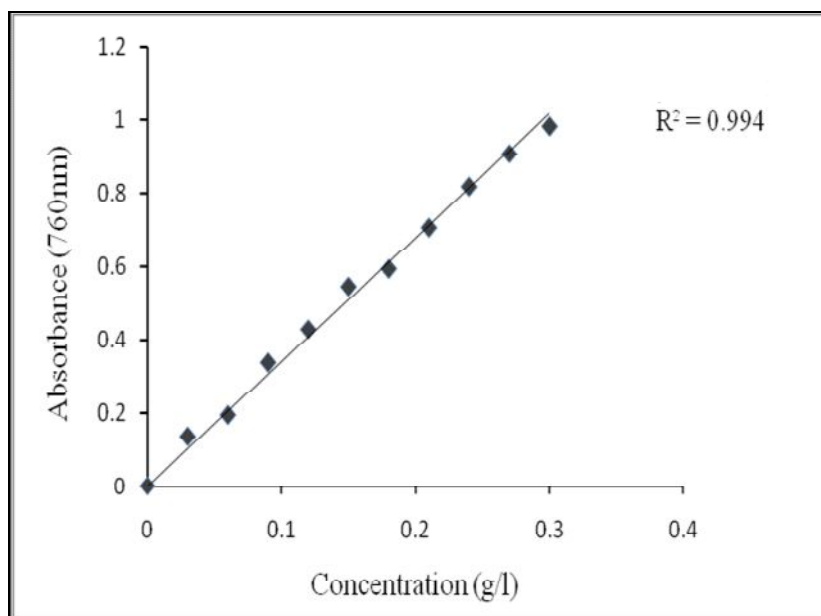


Figure VI-1. Courbe d'étalonnage de l'Acide gallique.

Echantillon	Solvant d'extraction	
	Acétone / Eau	Méthanol / Eau
Graines	4.333 mg/g	4.723 mg/g
Cosses	275.751 mg/g	259.286 mg/g

Tableau VI-1. Teneurs en phénols totaux dans les extraits.

On remarque d'après les résultats du tableau ci-dessus, que la teneur en composés phénoliques dans les extraits des cosses est plus importante à celle dans les extraits des graines pour les deux systèmes de solvants.

Les quantités des composés phénoliques dans les extraits des graines sont proches pour les deux systèmes: 4.723 mg/g et 4.333 mg/g pour les systèmes méthanol/eau et acétone/eau respectivement, avec un écart de 0.39 mg/g en faveur de l'extrait du système méthanol/eau.

Pour les extraits des cosses : les quantités des composés phénoliques sont aussi proches pour les deux systèmes : 259.286 mg/g et 275.751 mg/g pour les systèmes méthanol/eau et acétone/eau respectivement, avec un écart de 16.465 mg/g en faveur de l'extrait du système acétone/eau.

b- Taux de flavonoïdes

La quantité des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la rutine (figure VI-2). Les résultats obtenus exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent de la rutine sont regroupés dans le tableau VI-2.

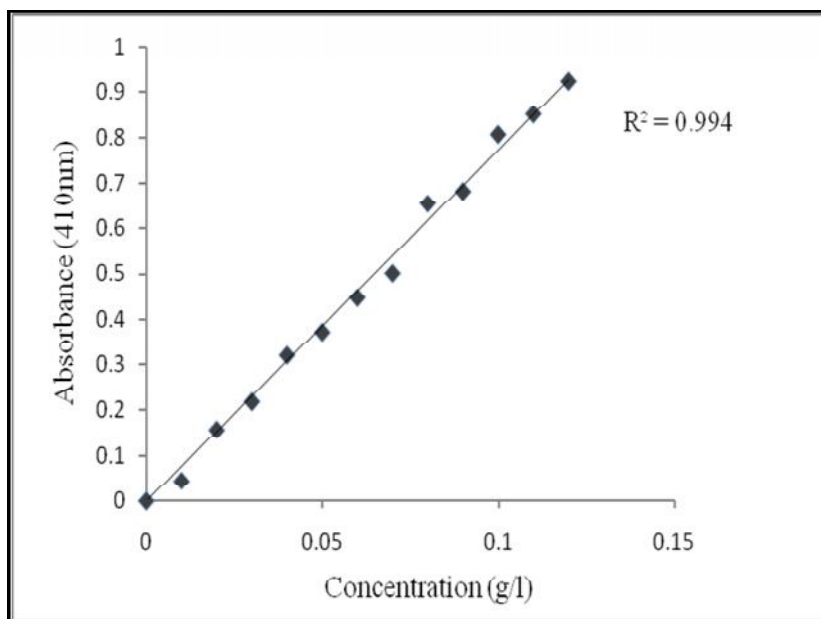


Figure VI-2. Courbe d'étalonnage de la Rutine.

Echantillon	Solvant d'extraction	
	Acétone / Eau	Méthanol / Eau
Graines	0.173 mg/g	0.248 mg/g
Cosses	0.784 mg/g	0.214 mg/g

Tableau VI-2. Teneurs en flavonoïdes dans les extraits.

A partir de ces résultats, on remarque que la quantité des flavonoïdes a varié dans les différents extraits mais dans le même sens que celui remarqué dans le cas des phénols totaux.

Pour les extraits des graines, on a remarqué que la quantité des flavonoïdes dans l'extrait hydrométhanolique est supérieure à celle dans l'extrait hydrocétonique qui sont de : 0.284 mg/g et 0.173 mg/g respectivement.

Pour les extraits des cosses, la quantité des flavonoïdes dans l'extrait hydrocétonique est supérieure à celle dans l'extrait hydrométhanolique qui sont de : 0.784 mg/g et 0.214 mg/g respectivement.

La figure VI-3 représente la comparaison entre la quantité des phénols totaux et des flavonoïdes dans les différents extraits étudiés.

On peut conclure que les cosses de la plante étudiée sont une source importante de phénols totaux qui sont des composés connus par leur activité antioxydante et plusieurs activités biologiques.

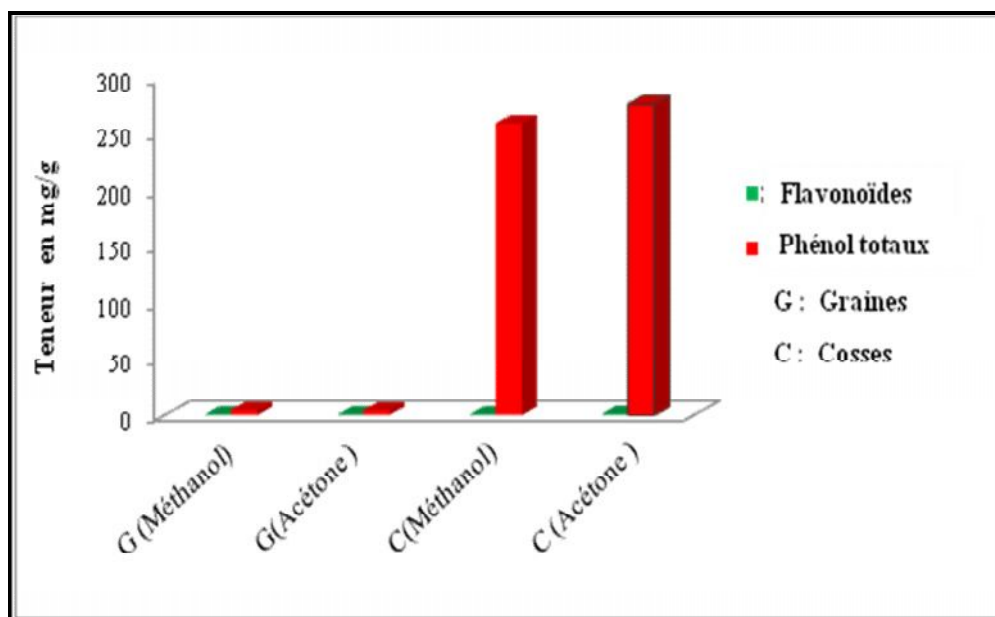


Figure VI-3. Comparaison entre les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits étudiés.

VI-2-Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques

VI-2-1-Tests Chimiques

a- Test de la réduction du Fer (FRAP)

L'activité antioxydante de nos extraits évaluée par ce test est mesurée en AEAC : qui représente l'activité antioxydante en équivalent de l'acide ascorbique (Ascorbic acid Equivalent Antioxydant Capacity), dont la courbe d'étalonnage est montrée dans la figure VI-4.

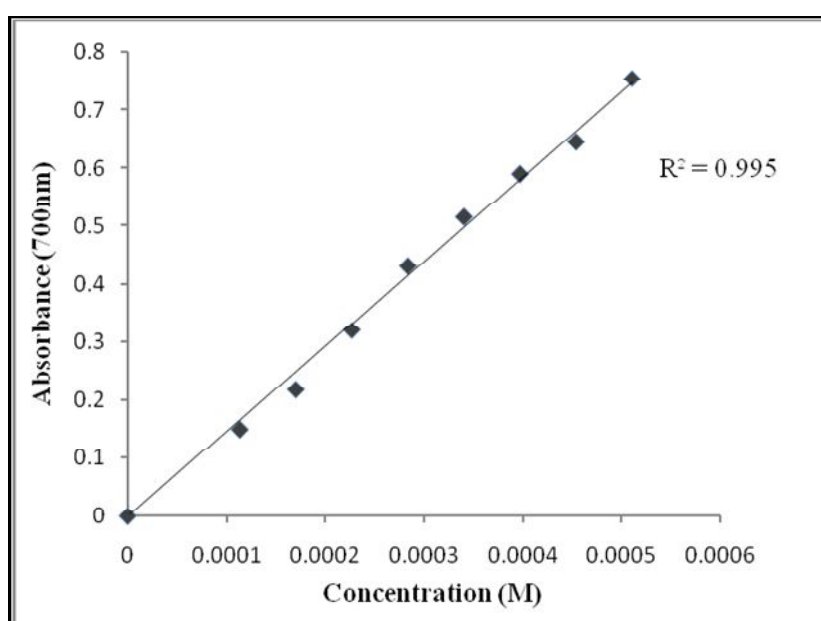


Figure VI-4. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vit C).

Les courbes représentantes de la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution sont données dans la figure VI-5.

Remarque : l'acide gallique est pris comme un standard comparatif.

Avec :

G(Acétone) : l'extrait hydroacétonique des graines.

G(Méthanol) : l'extrait hydrométhanolique des graines.

C(Acétone) : l'extrait hydroacétonique des cosses.

C(Méthanol) : l'extrait hydrométhanolique des cosses.

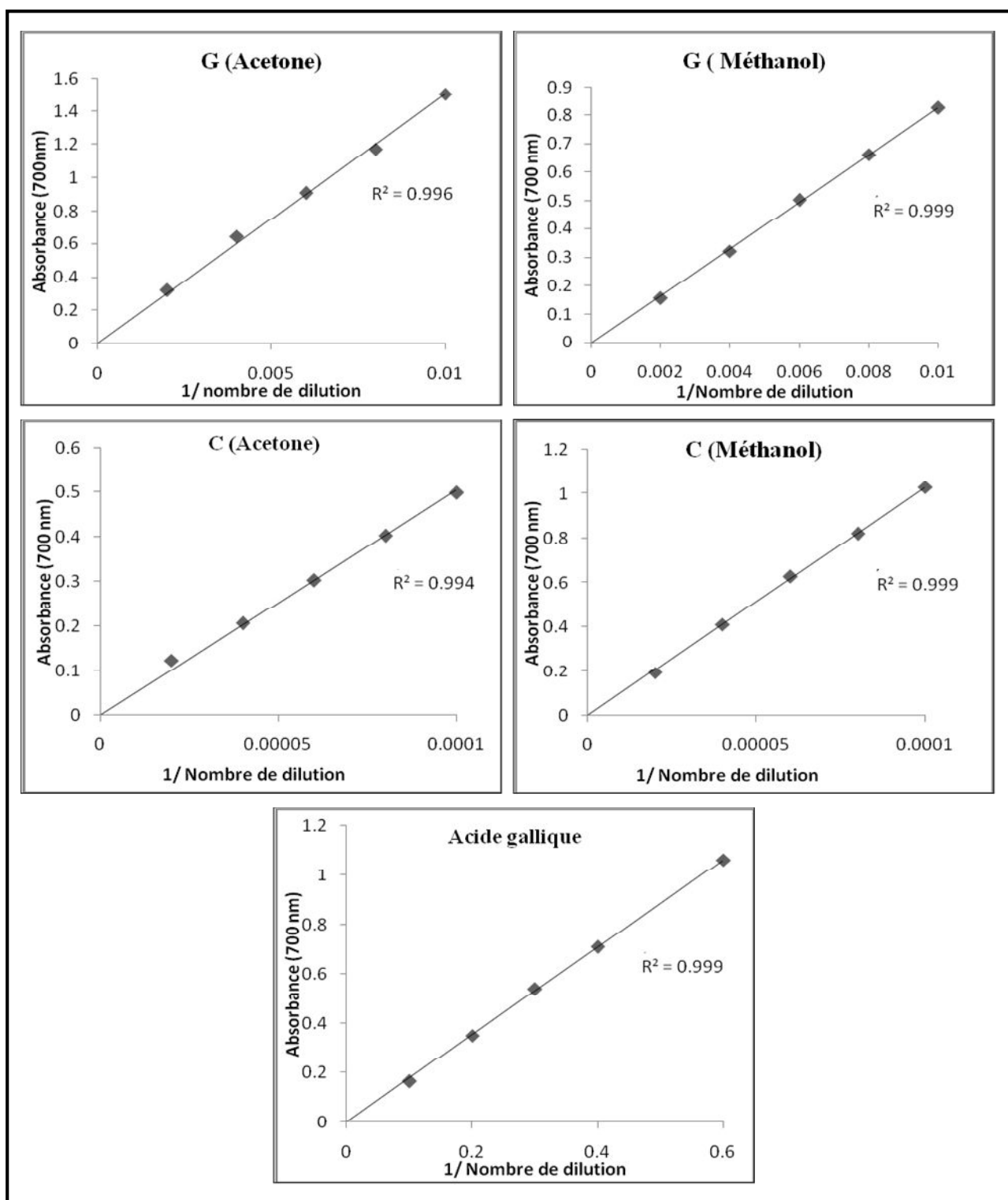


Figure VI-5. Courbes représentantes du pouvoir réducteur des extraits phénoliques.

Le tableau VI-3 résume les résultats du test du pouvoir réducteur :

Solvant d'extraction Echantillon	Activité antioxydante AEAC	
	Acétone / Eau	Méthanol / Eau
Graines	0.102	0.0565
Cosses	3.452	7.053
Acide Gallique	0.0012	

Tableau VI-3. Les valeurs d'AEAC des différents extraits phénoliques étudiés (test de FRAP).

D'après les résultats donnés dans le tableau précédent, on remarque que tous les extraits ont un pouvoir réducteur important par rapport à celui de l'acide gallique : pour les extraits des graines, l'activité de l'extrait hydroacétonique est plus importante à celui de l'extrait hydrométhanolique, par contre, on trouve pour les extraits des cosses que l'activité réductrice de l'extrait hydrométhanolique est la plus importante.

Ces résultats peuvent être expliqués par l'existence de molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort dans les extraits des cosses.

La variation des valeurs d'AEAC pour chaque extrait en fonction du contenu en phénols totaux et en fonction de la teneur en flavonoïdes est représentée dans les figures VI-6 et VI-7 respectivement.

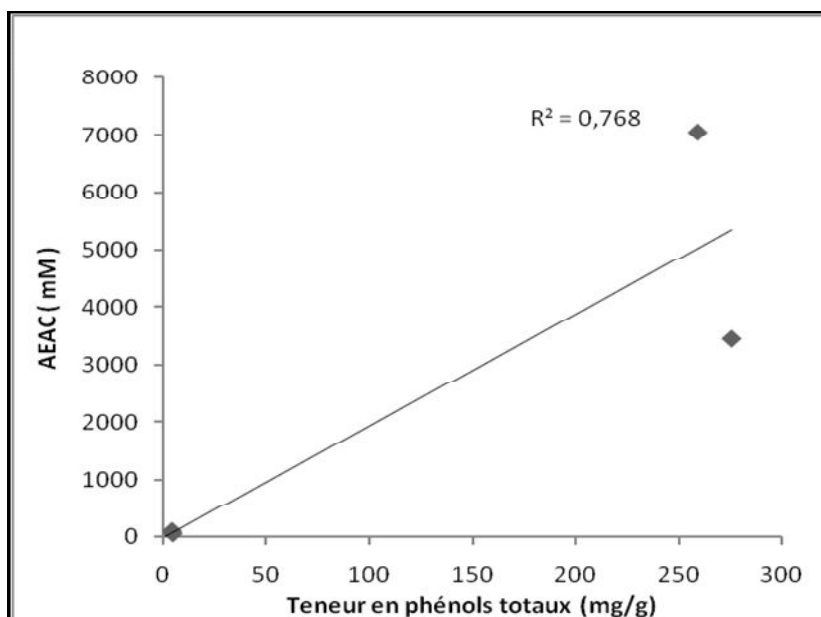


Figure VI-6. Variation des valeurs d'AEAC en fonction de la teneur en phénols totaux des extraits étudiés. (FRAP)

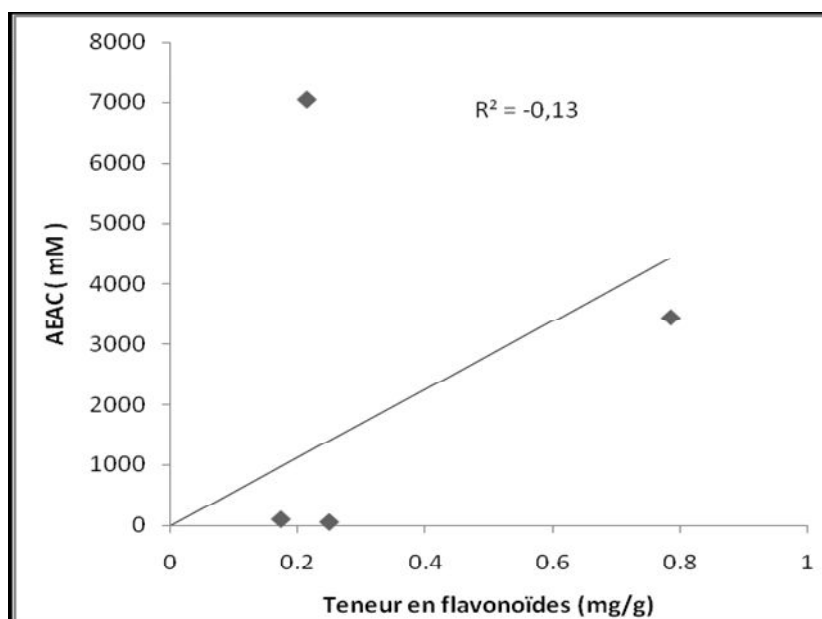


Figure VI-7. Variation des valeurs d'AEAC en fonction de la teneur en flavonoïdes des extraits étudiés. (FRAP)

Selon ces tracés, il est clair que le niveau d'activité antioxydante se corrèle positivement avec à peu près toutes les teneurs en phénols totaux d'un coefficient de corrélation égale à $R^2 = 0.768$, par contre la corrélation est très faible en fonction de la teneur en flavonoïdes.

b- Test de Molybdates phosphate (PM)

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits est comparée par rapport à celle de l'acide ascorbique (Vit C) dont la courbe d'étalonnage est montrée dans la figure VI-8.

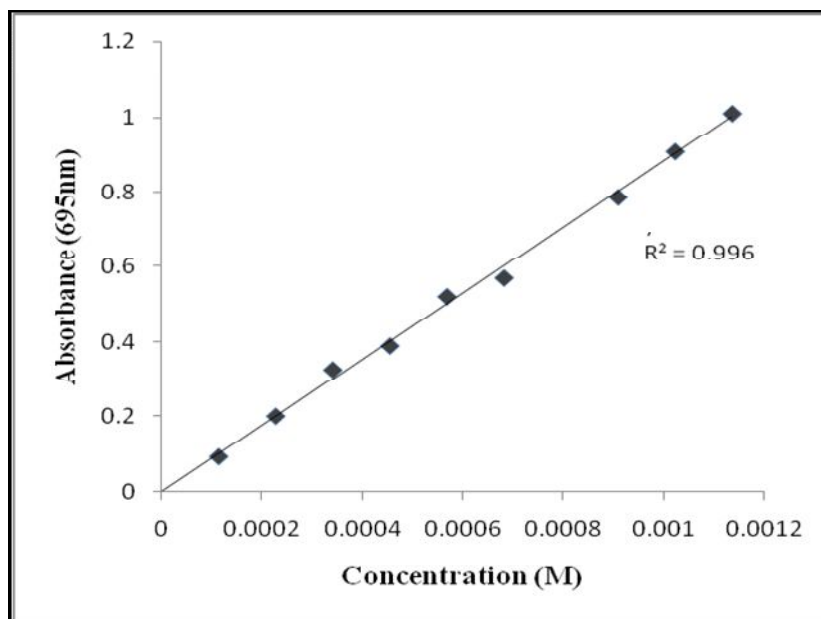


Figure VI-8. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vit C).

Les courbes qui représentent la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution sont données dans la figure VI-9.

Remarque : l'acide gallique est pris comme un standard comparatif.

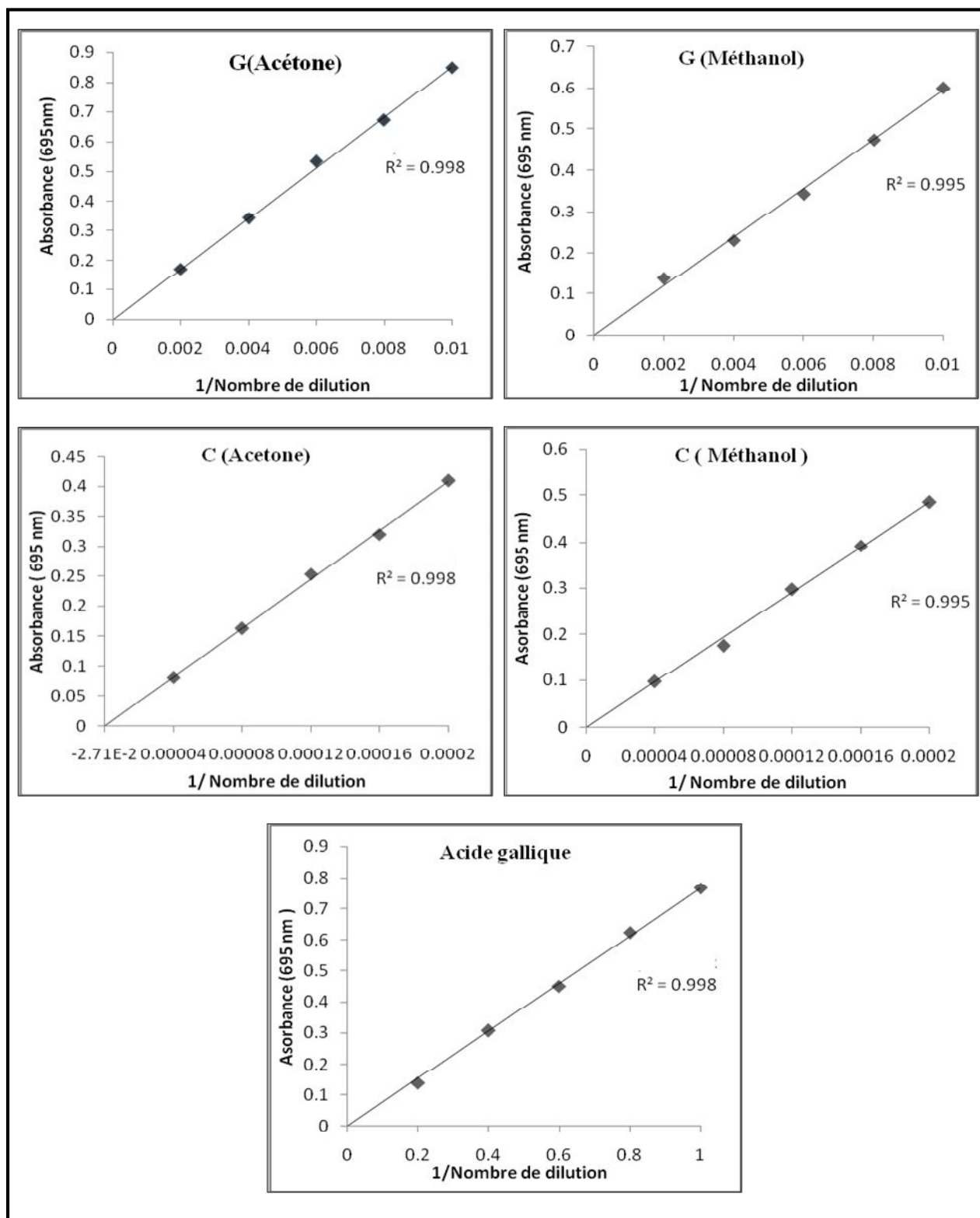


Figure VI-9. Courbes représentant le pouvoir réducteur des extraits phénoliques (Test de PM).

Le tableau VI-4 résume les résultats du test du pouvoir réducteur :

Solvant d'extraction Echantillon	Activité antioxydante AEAC	
	Acétone / Eau	Méthanol / Eau
Graines	0.096	0.067
Cosses	2.319	2.748
Acide Gallique	0.00087	

Tableau VI-4. Les valeurs du pouvoir antioxydant des différents extraits phénoliques étudiés (Test de molybdate phosphate).

Les résultats du tableau VI-4 montre que tous les extraits phénoliques de l'acacia arabica ont un pouvoir réducteur important par rapport à celui de l'acide gallique : le pouvoir réducteur a varié pour tous les extrait mais de la même manière de sa variation dans le test RPA.

Pour les extraits des graines, l'activité la plus importante est celle de l'extrait de l'extrait hydroacétonique, par contre, on trouve pour les extraits des cosses que l'activité réductrice de l'extrait hydrométhanolique est la plus importante.

Ces résultats peuvent être expliqués par l'existence de molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort dans les extraits des cosses.

La variation des valeurs d'AEAC pour chaque extrait en fonction du contenu en phénols totaux et en fonction de la teneur en flavonoïdes est représentée dans les figures VI-10 et VI-11 respectivement.

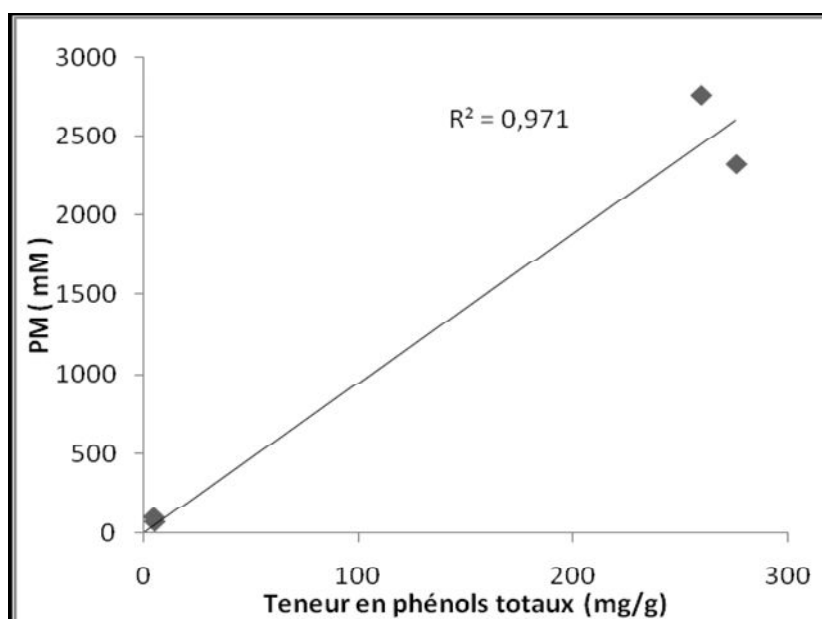


Figure VI-10. Variation des valeurs de pouvoir réducteur en fonction de la teneur en phénols totaux des extraits étudiés. (Test de PM)

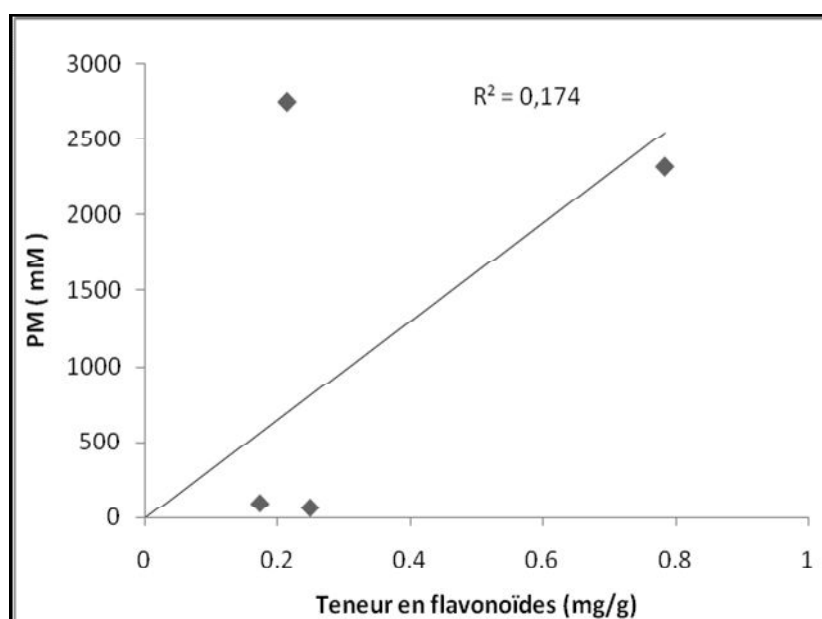


Figure VI-11. Variation des valeurs de pouvoir réducteur en fonction de la teneur en flavonoïdes des extraits étudiés. (Test de PM)

Ces tracés indiquent que le niveau d'activité antioxydante se corrèle positivement avec à peu près toutes les teneurs en phénols totaux d'un coefficient de corrélation égale à $R^2 = 0.971$, par contre la corrélation est très faible en fonction de la teneur en flavonoïdes.

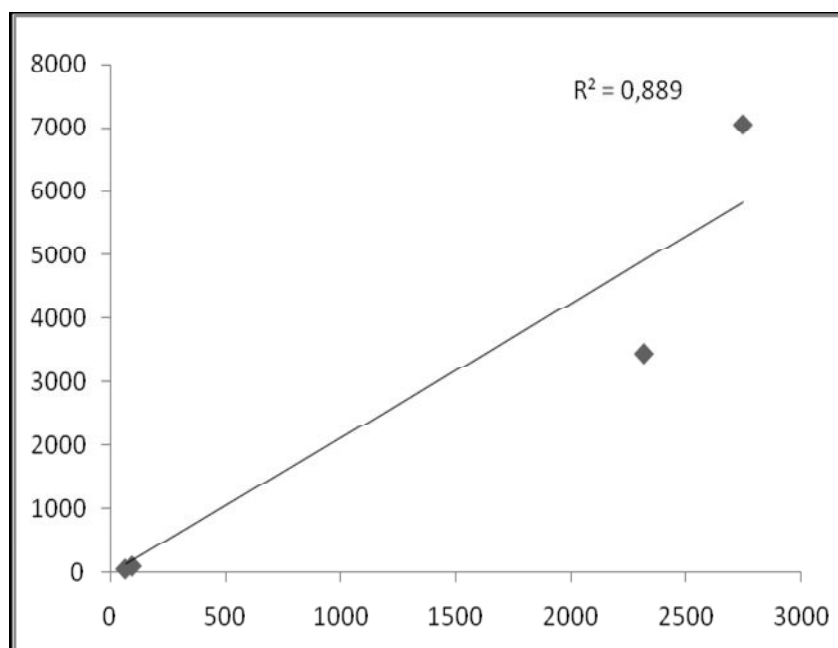


Figure VI-12. Tracé des valeurs d'AEAC (FRAP) en fonction des valeurs d'AEAC (PM).

Il existe une corrélation linéaire très importante entre les valeurs d'AEAC (Test du pouvoir réducteur) et celles du test de phosphate molybdate (PM) avec un coefficient de corrélation de l'ordre de 0.889 (figure VI-12). Ces résultats identiques montrent que le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques de l'*acacia arabica* mesuré par les deux tests est comparable.

c- Test de DPPH

La valeur d' IC_{50} représente la concentration d'inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres. Afin de déterminer cette valeur pour chaque extrait, les courbes de la variation du pouvoir d'inhibition I% en fonction de la concentration en phénols totaux sont établies dans la figure VI-13.

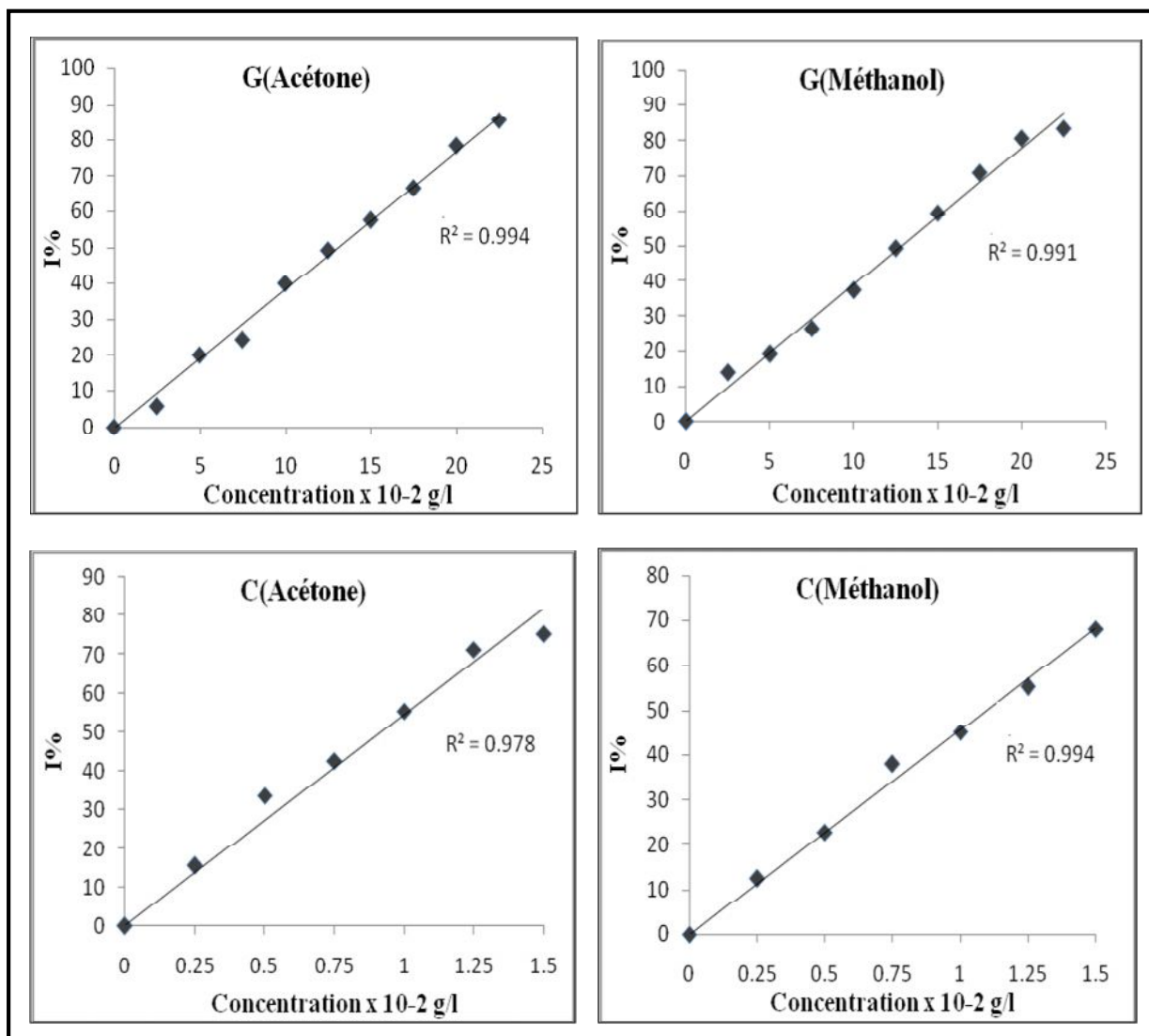


Figure VI-13. Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques (Test du DPPH).

Le tableau VI-5 regroupe les valeurs d' IC_{50} de nos extraits calculées à partir des courbes figurées dans la figure VI-13. L' IC_{50} de référence est celle de la vitamine E.

Solvant d'extraction Echantillon	Valeurs d'IC ₅₀ x 10 ⁻² (g/l)	
	Acétone / Eau	Méthanol / Eau
Graines	128.50	130.54
Cosses	9.16	10.96
Vitamine E	34	

Tableau VI-5. Valeurs de IC₅₀ pour les différents extraits phénoliques étudiés (Test de DPPH).

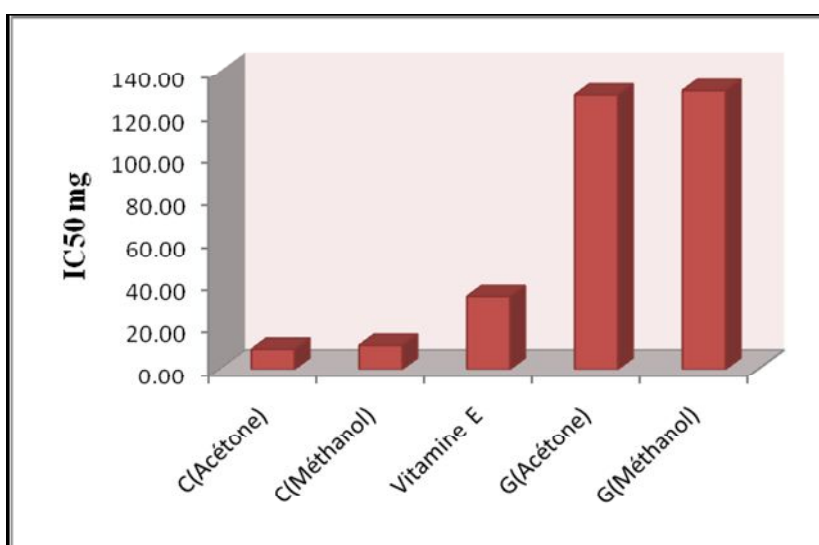


Figure VI-14. Classement croissant des extraits phénoliques selon leur IC₅₀. (Test de DPPH)

Puisque les valeurs d'IC₅₀ présentent les concentrations d'inhibiteurs nécessaires pour balayer 50% des radicaux libres et qui sont inversement proportionnelle à l'activité antioxydante, d'après le classement croissant schématisé de la figure VI-14, on remarque que les extraits phénoliques des cosses ont un pouvoir antioxydant supérieur à celui de la vitamine E : C(acétone) et C(méthanol) ont une activité respectivement trois et quatre fois supérieure à celle de la vitamine E, par contre les extraits phénoliques des graines ont le pouvoir antioxydant le moins important de tous les extraits (dix fois moins actifs que la vitamine E). En se basant sur les résultats obtenus, on peut conclure que la variation de la capacité antioxydante des extraits des cosses comparativement à celle de la vitamine E pourrait principalement être due à la présence de certaines molécules potentiellement actives.

On a essayé de trouver une corrélation linéaire entre les valeurs d'IC₅₀ et les teneurs en polyphénols totaux, les teneurs en flavonoïdes et les valeurs d'AEAC pour les deux tests FRAP et PM, les graphes avec les coefficients de corrélation sont présentés dans la figure VI-15.

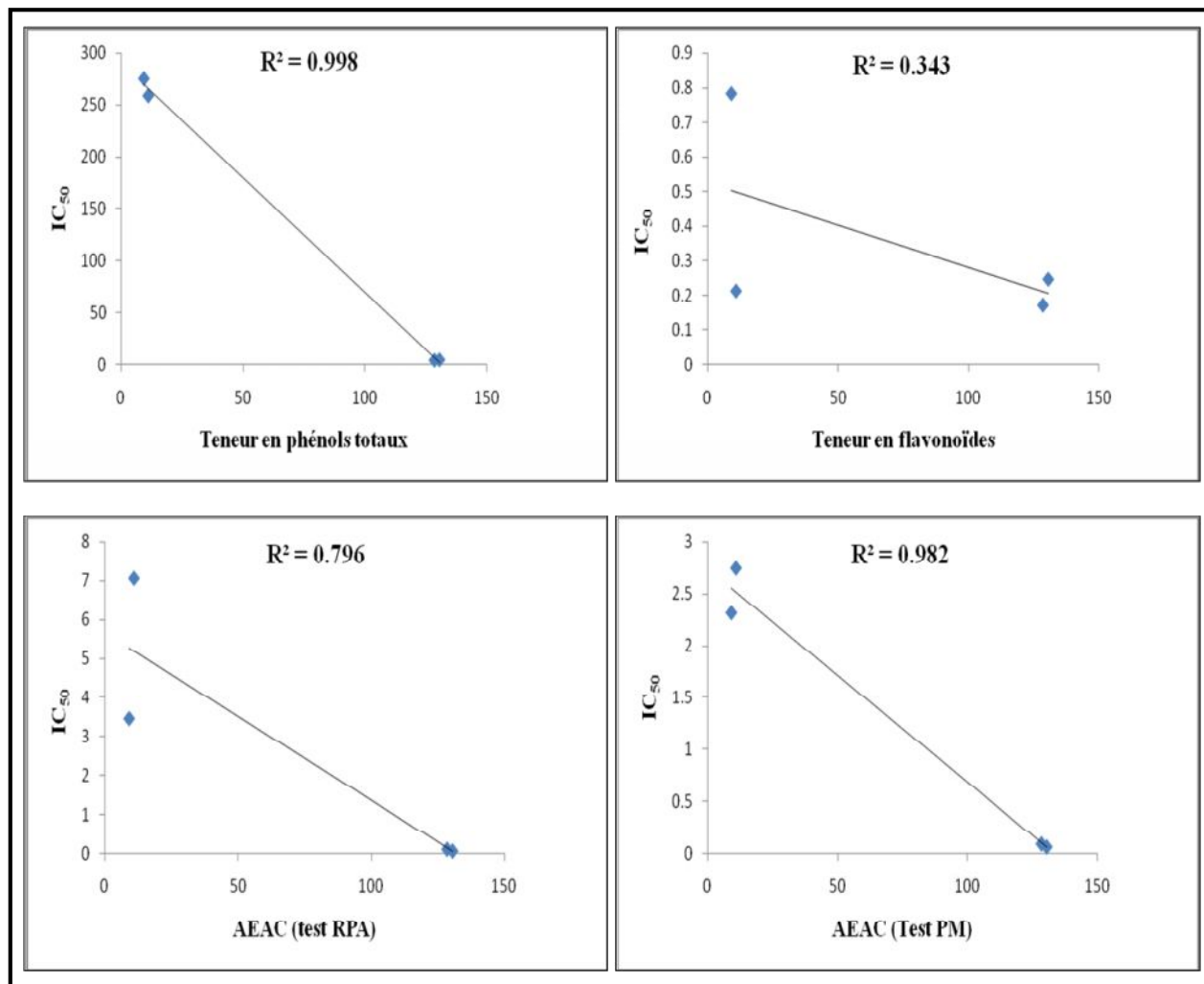


Figure VI-15. Corrélation entre les valeurs d'IC₅₀ (DPPH) des extraits phénoliques et : les teneurs en phénols totaux, teneurs en flavonoïdes et les valeurs d'AEAC (FRAP et PM).

D'après ces résultats, on remarque d'une part qu'il existe une bonne corrélation entre les valeurs d'IC₅₀ du test DPPH et les teneurs en phénols totaux ($R^2 = 0,998$) et même plus importante que celle avec les teneurs en flavonoïdes ($R^2 = 0,343$), ceci peut être expliqué par la présence des molécules antioxydantes actives qui appartiennent aux phénols totaux mais autres que les flavonoïdes. D'autre part on remarque qu'il y a une bonne corrélation entre les valeurs d'IC₅₀ et les valeurs d'AEAC calculées par le test de PM ($R^2 = 0,982$) par rapport à celles calculées par le test FRAP ($R^2 = 0,796$), cela indique que les activités antioxydantes prouvées par les deux tests DPPH et PM sont assurée, peut être, par les mêmes molécules actives.

VI-2-2-Tests Electrochimiques

Méthode électrochimique de la Voltamétrie Cyclique

Les mesures du pic de l'oxygène prises par voltamétrie cyclique en absence et en présence de nos extraits phénolique ont été enregistrées sous forme de voltamogrammes: pour chaque extrait ont a superposé les voltamogrammes de différentes concentrations sur celui de la solution DMF seule (sans extrait) pour montrer d'une manière claire la diminution de l' $O_2^{\bullet-}$.

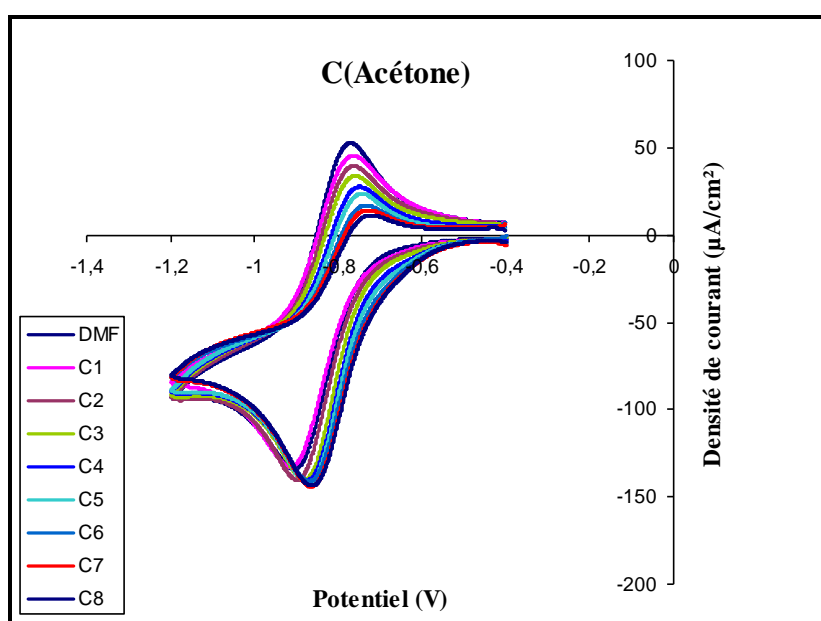


Figure VI-16. Voltamogrammes de réduction de l' O_2 en présence de différentes concentrations de l'extrait C(Acétone) (milieu DMF, NBu_4APF_6 0.1M ; Electrode Cv ; vitesse de balayage 0.1 $V.s^{-1}$; $T = 25^\circ c$)

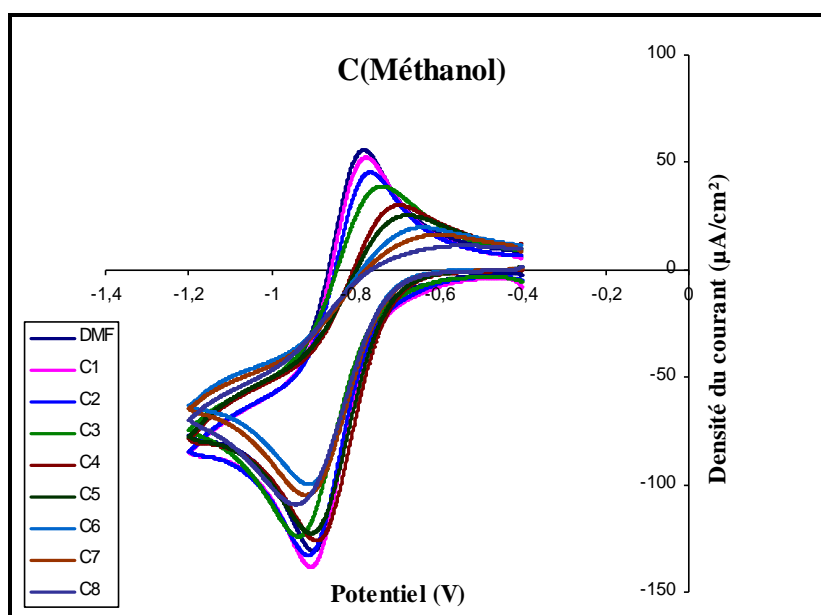


Figure VI-17. Voltammogrammes de réduction de l' O_2 en présence de différentes concentrations de l'extrait C(Méthanol) (milieu DMF, NBu_4APF_6 0.1M ; Electrode Cv ; vitesse de balayage $0.1 V.s^{-1}$; $T = 25^\circ C$)

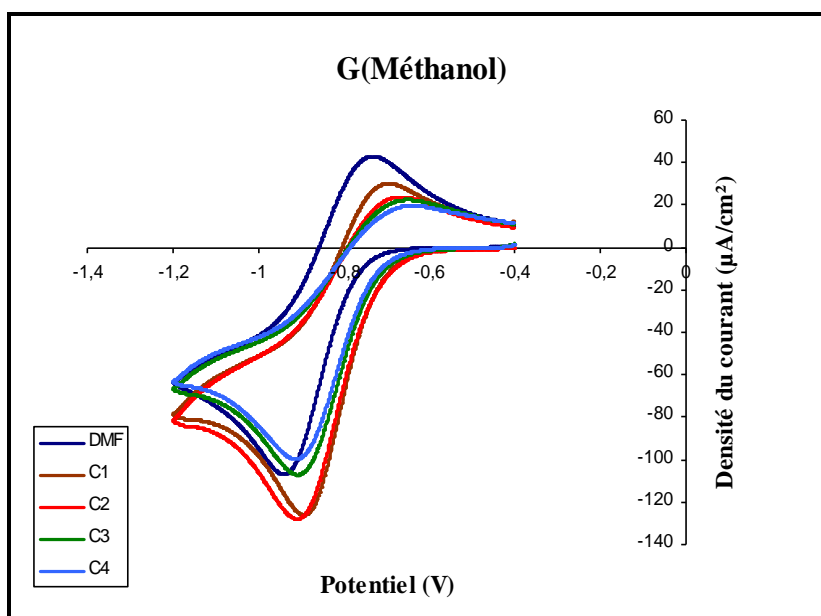


Figure VI-18. Voltammogrammes de réduction de l' O_2 en présence de différentes concentrations de l'extrait G(Méthanol) (milieu DMF, NBu_4APF_6 0.1M ; Electrode Cv ; vitesse de balayage $0.1 V.s^{-1}$; $T = 25^\circ C$)

Dans l'étude de l'activité antioxydante de nos extraits par la voltamétrie cyclique, on a pris l'acide ascorbique comme standard comparatif.

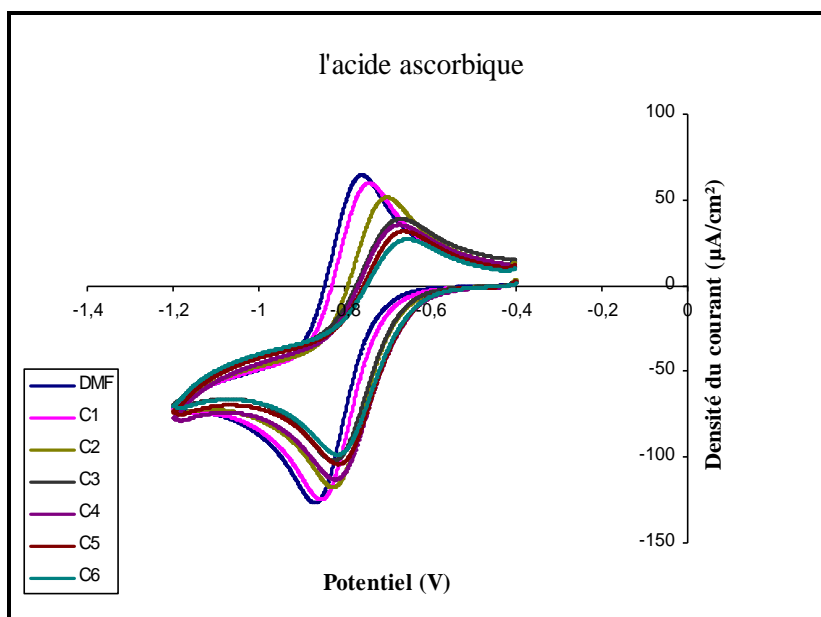


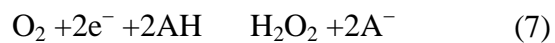
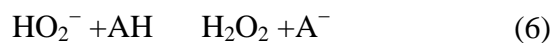
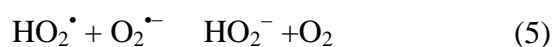
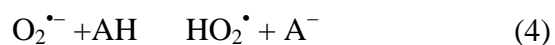
Figure VI-19. Voltamogrammes de réduction de l' O_2 en présence de différentes concentrations de l'extrait G(Méthanol) (milieu DMF, NBu_4APF_6 0.1M ; Electrode Cv ; vitesse de balayage $0.1 V.s^{-1}$; $T = 25^\circ C$).

Les voltamogrammes de la réduction de l'oxygène, en présence des extraits phénoliques et l'acide ascorbique, ont été enregistrés afin d'évaluer l'activité antioxydante de ces extraits vis-à-vis l' $O_2^{\bullet-}$. On remarque d'après ces voltamogrammes (figures VI-16, VI-17, VI-18 et VI-19), que l'augmentation de la concentration du substrat conduit à une diminution du pic du courant anodique (I_{pa}^S) de l' $O_2^{\bullet-}$, alors qu'il n'y a pas eu une modification significative dans l'intensité du pic cathodique. Cette diminution du pic anodique de l' $O_2^{\bullet-}$ est due à la réaction irréversible de l'extrait phénolique avec l' $O_2^{\bullet-}$. Pour chaque extrait, une série des valeurs du pic (I_{pa}^S) a été enregistrée.

Le comportement électrochimique de l'oxygène est peut être résumé par les équations (1)-(3) où AH représente le composé antioxydant. Après la réduction réversible de l'oxygène (1), l'anion superoxyde généré réagit avec le AH (2) conduisant à des produits électrochimiquement inactifs dans l'intervalle de balayage. Pour cette réaction on peut suivre l'hypothèse d'un transfert d'un atome d'hydrogène H (3) conduisant à un radical A^\bullet , qui peut être un radical phénoxy, à la base conjuguée du peroxyde d'hydrogène [158-160].

Selon la littérature, certains substrats donneurs de protons augmentent le courant cathodique de l'oxygène d'un électron à une réduction à deux électrons. Le mécanisme est décrit par un premier transfert de proton (4) suivi d'un transfert d'électron (5). Avec un deuxième transfert de proton (6) la réaction globale est une réduction biélectronique de l'oxygène (7).

Le mécanisme réactionnel est décrit comme suit :



Les tracés des valeurs de (IPas/IPa_0) en fonction de la concentration pour les extraits et l'acide ascorbique sont schématisés dans la figure VI-20.

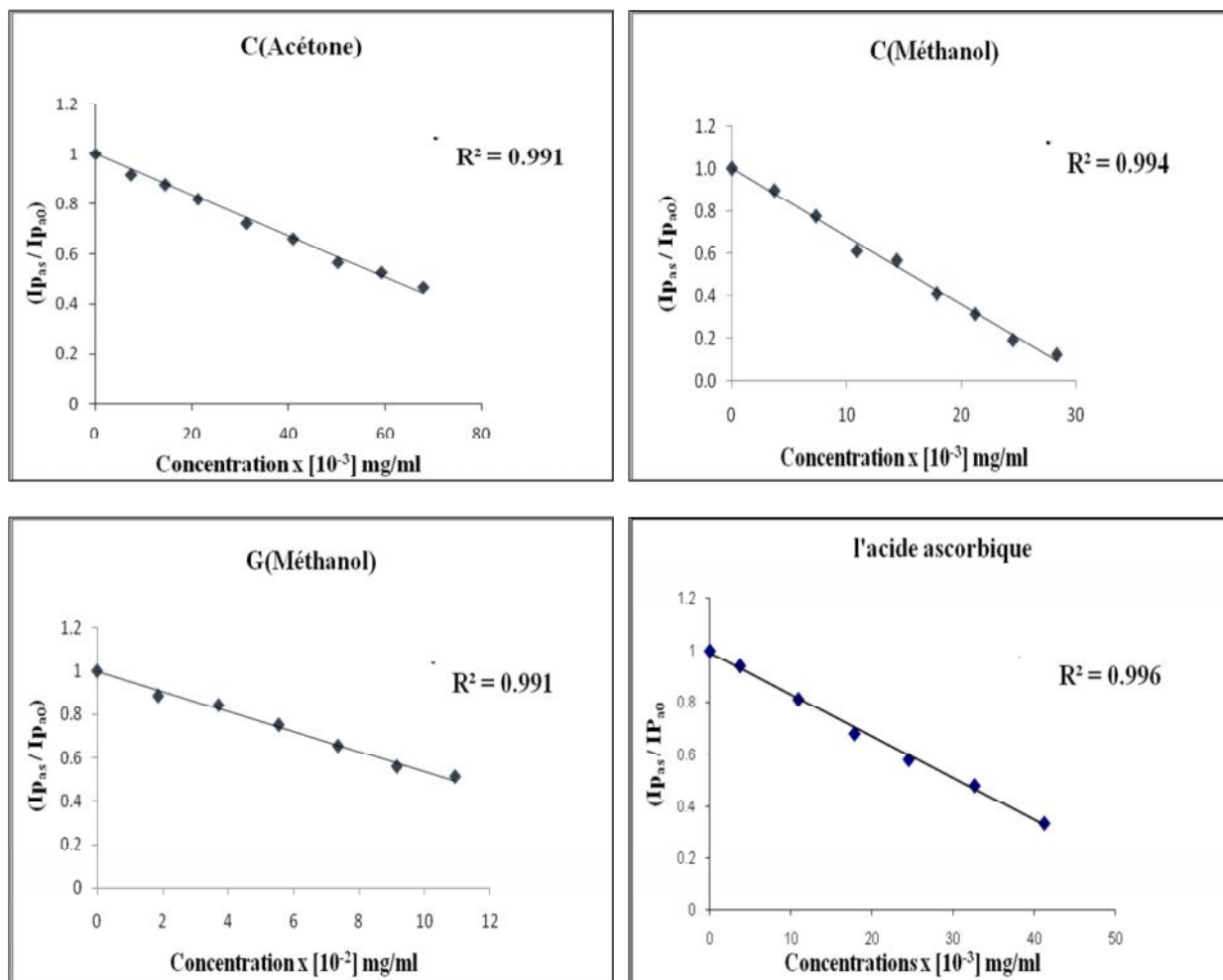


Figure VI-20. Le rapport $(I_{p_{as}}/I_{p_{a0}})$ en fonction de la concentration des extraits et de l'acide ascorbique.

Etant donnée la relation suivante :

$$I\% = \frac{I_{p_{a0}} - I_{p_s}}{I_{p_{a0}}} \times 100$$

Avec :

$I\%$: pourcentage d'inhibition

$I_{p_{a0}}$: densité du courant anodique en absence de substrat.

I_{p_s} : densité du courant anodique en présence de substrat.

Après le calcul des valeurs de l'inhibition de l' $O_2^{\cdot-}$, on les a tracé en fonction de la concentration pour obtenir les courbes montrées dans la figure VI-21.

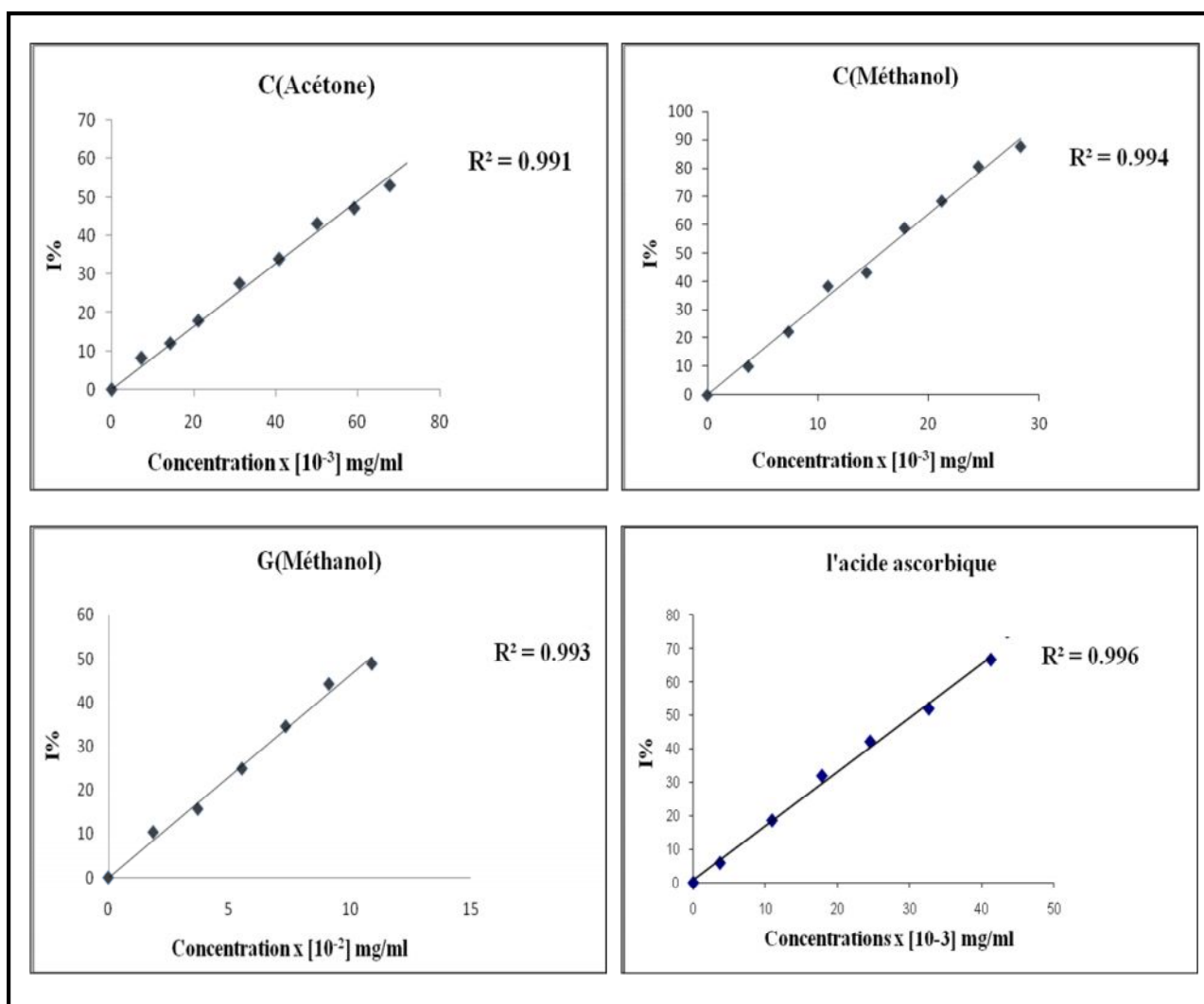


Figure VI-21. L'inhibition I% en fonction de la concentration des extraits phénolique et de l'acide ascorbique.

A partir de ces graphes, on a pu calculer les valeurs d' IC_{50} pour chaque extrait phénolique ainsi que celle de l'acide ascorbique. Ces valeurs sont données dans le tableau VI-6.

Solvant d'extraction Echantillon	Valeurs d'IC ₅₀ (g/l)	
	Acétone / Eau	Méthanol / Eau
Graines	-	120.03
Cosses	61.16	15.64
Acide ascorbique	30.63	

Tableau VI-6. Valeurs de IC₅₀ pour les différents extraits phénoliques étudiés et de l'acide ascorbique (Méthode de la voltamétrie cyclique).

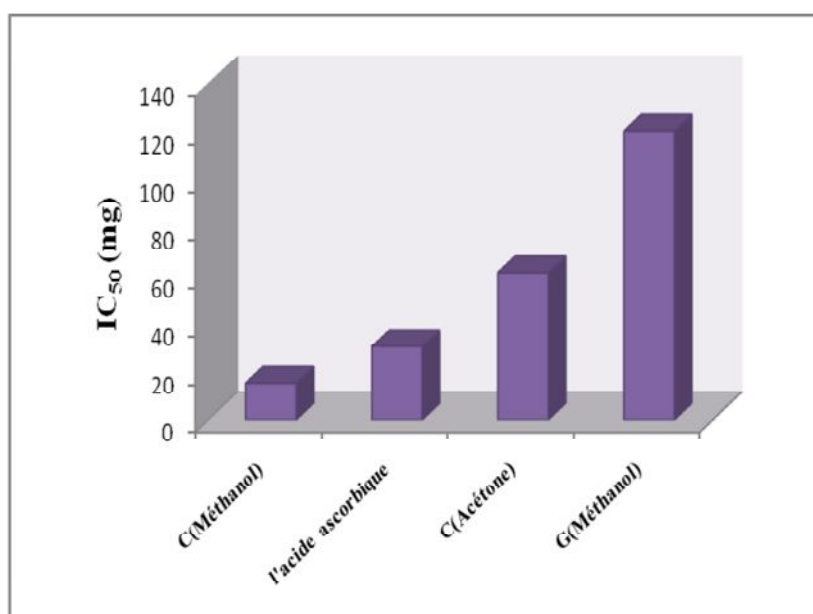


Figure VI-22. Classement croissant des extraits phénoliques étudiés selon leur IC₅₀. (Méthode de la voltamétrie cyclique).

On remarque d'après ces résultats que seul l'extrait hydrométhanolique des cosses a un pouvoir antioxydant supérieur à celui de l'acide ascorbique : son efficacité antioxydante est deux fois plus supérieure à celle de la vitamine C, par contre les autres extraits phénoliques ont des pouvoirs antioxydant moins importants (l'extrait hydroacétonique des cosses et l'extrait hydrométhanolique des graines sont deux fois et quatre fois respectivement moins actifs que la vitamine C). On peut conclure que la variation de la capacité antioxydante des extraits hydrométhanolique des cosses comparativement à celle de la vitamine C pourrait principalement être due à la présence de certaines molécules potentiellement actives.

Pour vérifier la corrélation entre les valeurs de l'IC₅₀ obtenus par voltamétrie cyclique et les teneurs en polyphénols totaux, les teneurs en flavonoïdes, les valeurs d'AEAC pour

les deux tests FRAP et PM et les valeurs d'IC₅₀ du test de DPPH, on a tracé les courbes schématisées dans la figure VI-23.

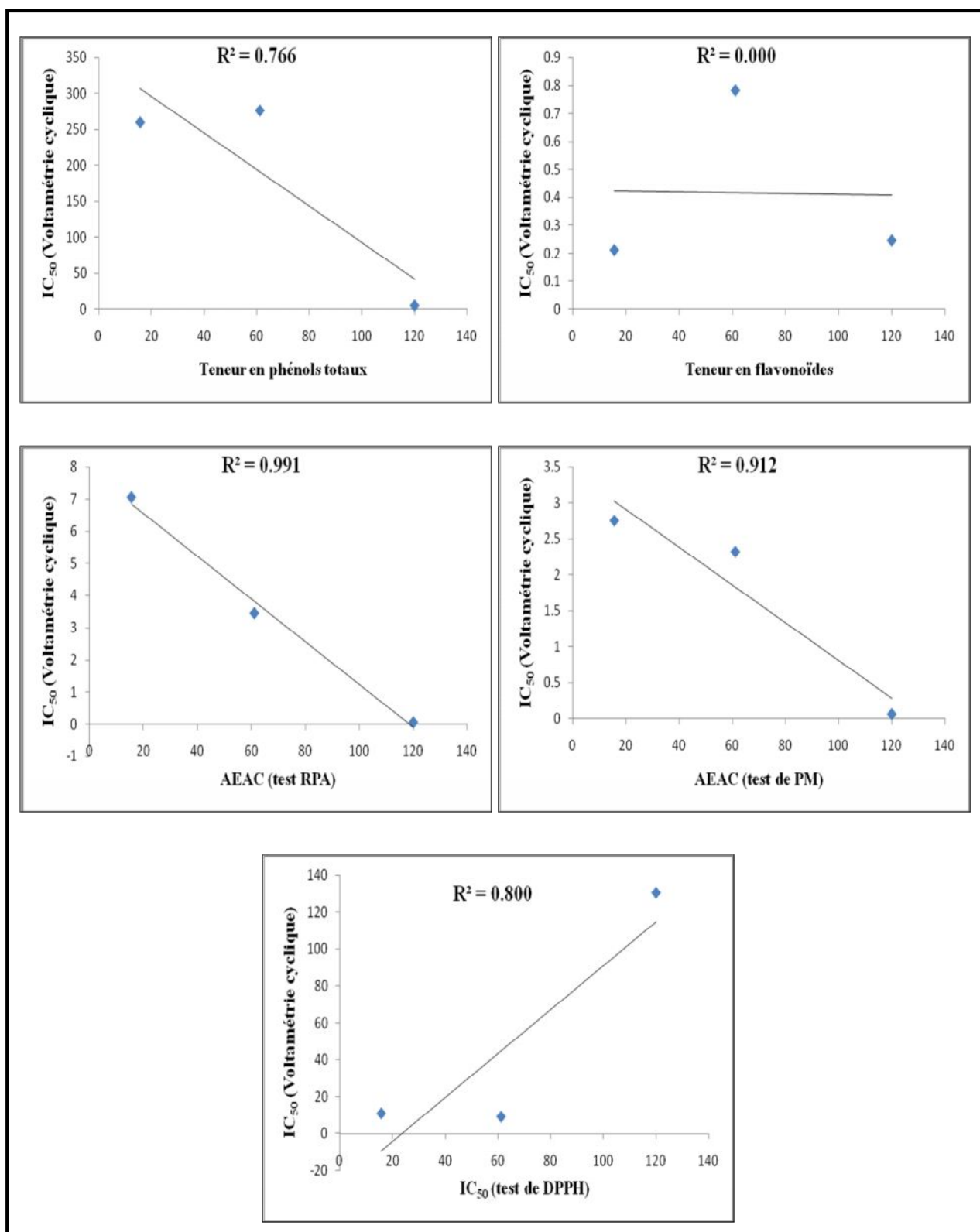


Figure VI-23. Corrélation entre les IC₅₀ (Voltamétrie cyclique) et les teneurs en phénols Totaux, flavonoïdes, les AEAC (tests RPA et PM) et les IC₅₀ (test DPPH)

A partir de ces résultats, et en traitant le premier cas, on remarque une bonne corrélation entre l'activité antioxydante évaluée par la voltamétrie cyclique et la teneur en phénols totaux ($R^2 = 0.766$) contrairement au deuxième cas dans lequel elle est totalement indépendante de la teneur en flavonoïdes ($R^2 = 0$) ce que révèle la présence de molécules active responsables de l'effet antioxydant et qui appartiennent aux phénols totaux. Pour le reste des cas, on remarque de très bonnes corrélations entre les résultats obtenus par voltamétrie cyclique et ceux obtenus par les tests RPA et PM ($R^2 = 0.991$ et 0.912 respectivement) et pour la relation entre voltamétrie cyclique et test de DPPH, on peut dire que les résultats de ces deux méthodes peuvent être comparables ($R^2 = 0.800$).

VI-3-Résultats de l'évaluation de l'activité inhibitrice de la corrosion de l'acier X52 en milieu acide

a- Les courbes de polarisation

Les courbes de polarisation de l'Acier X52 en absence et en présence des extraits phénoliques C(Acétone) et C(Méthanol) à différentes concentrations, en milieu HCl (1N) sont rapportées dans les figures VI-24 et VI-25.

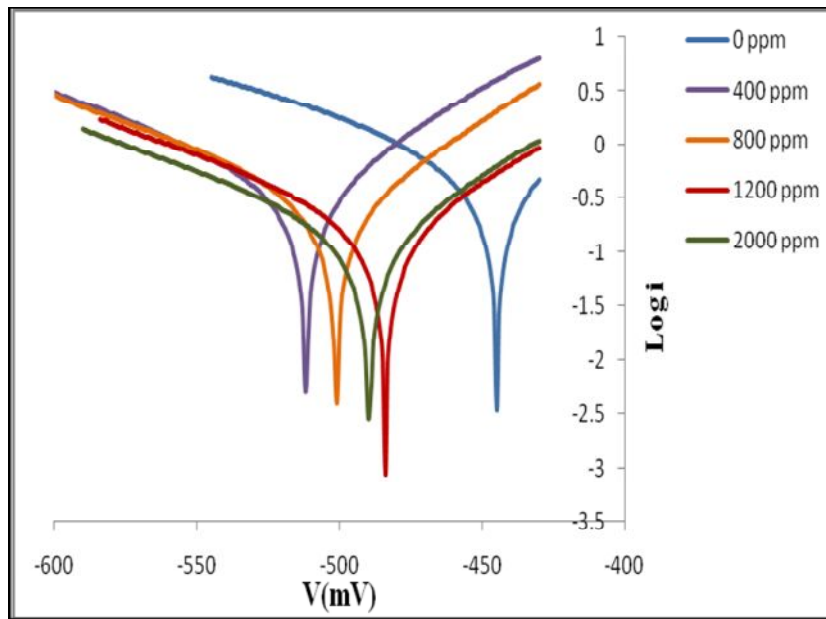


Figure VI-24. Les courbes de polarisation à différentes concentrations de C(Acétone).

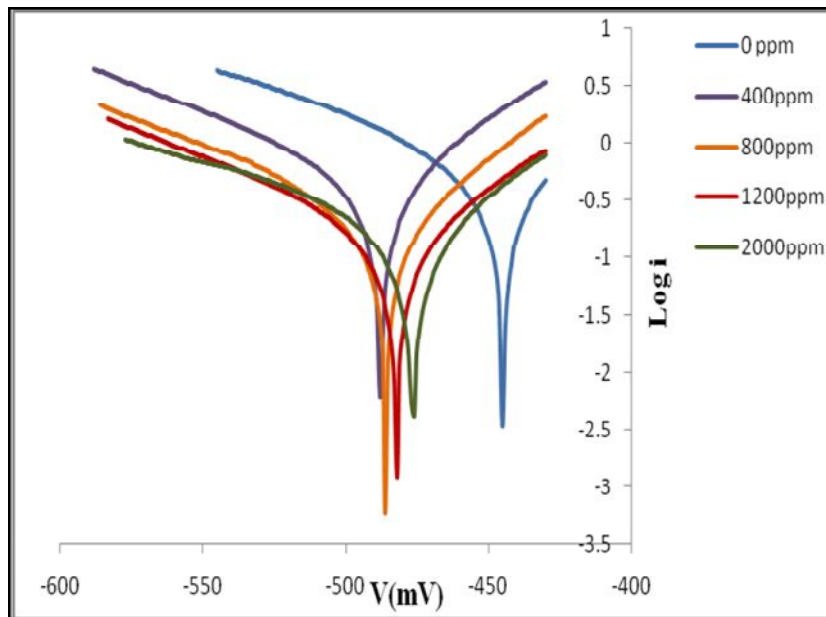


Figure VI-25. Les courbes de polarisation à différentes concentrations de C(Méthanol).

Les paramètres électrochimiques obtenus par l'exploitation des courbes de polarisation : les densités de corrosion i_{cor} , les potentiels de corrosion E_{cor} , les pentes anodiques et cathodiques de Tafel B_a et B_c et l'efficacité inhibitrice $R\%$ des différentes concentrations des deux extraits C(Acétone) et C(Méthanol) en milieu acide HCl (1N), sont regroupés dans les tableaux VI-7 et VI-8.

Le rendement de l'inhibition est calculé par la relation :

$$R\% = (V_{0corr} - V_{corr}) \times 100 / V_{0corr}$$

Avec :

V_{0corr} : vitesse de corrosion sans addition de l'inhibiteur.

V_{corr} : vitesse de corrosion avec addition de l'inhibiteur.

C (ppm)	E _{corr} (mV)	R _p (ohm.cm ²)	I _{corr} (mA.cm ²)	B _a (mV)	B _c (mV)	V _{corr} (mm/an)	R%
0	-488.2	24.36	0.5986	63.9	-84.5	6.654	0
400	-511.8	42.25	0.3414	62.0	-90.3	3.933	40.892
800	-501.2	56.36	0.3140	64.5	-104.4	3.406	48.815
1200	-483.9	97.10	0.1961	68.8	-107.1	2.293	65.539
2000	-489.7	113.41	0.1473	64.8	-102.9	1.723	74.105

Tableau VI-7. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Acétone) à différentes concentrations. (Droites de Tafel)

C (ppm)	E _{corr} (mV)	R _p (ohm.cm ²)	I _{corr} (mA.cm ²)	B _a (mV)	B _c (mV)	V _{corr} (mm/an)	R%
0	-488.2	24.36	0.5986	63.9	-84.5	6.654	0
400	-480.9	44.03	0.3539	59.8	-99.8	4.139	37.796
800	-486.0	73.55	0.2402	59.4	-106.4	2.809	57.784
1200	-476.5	100.68	0.1832	58.0	-131.2	2.142	67.808
2000	-482.1	103.37	0.1625	63.7	-101.5	1.900	71.445

Tableau VI-8. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Méthanol) à différentes concentrations. (Droites de Tafel)

A partir de ces résultats, la variation du rendement des inhibiteurs en fonction de la concentration a été tracée et montrée dans les figures VI-26 et VI-27 suivantes.

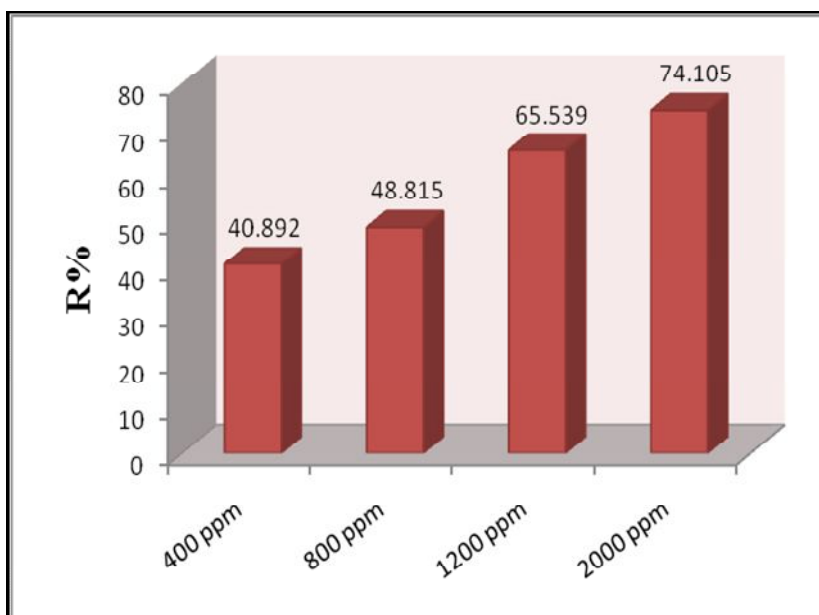


Figure VI-26. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Acétone). (Courbes de Tafel)

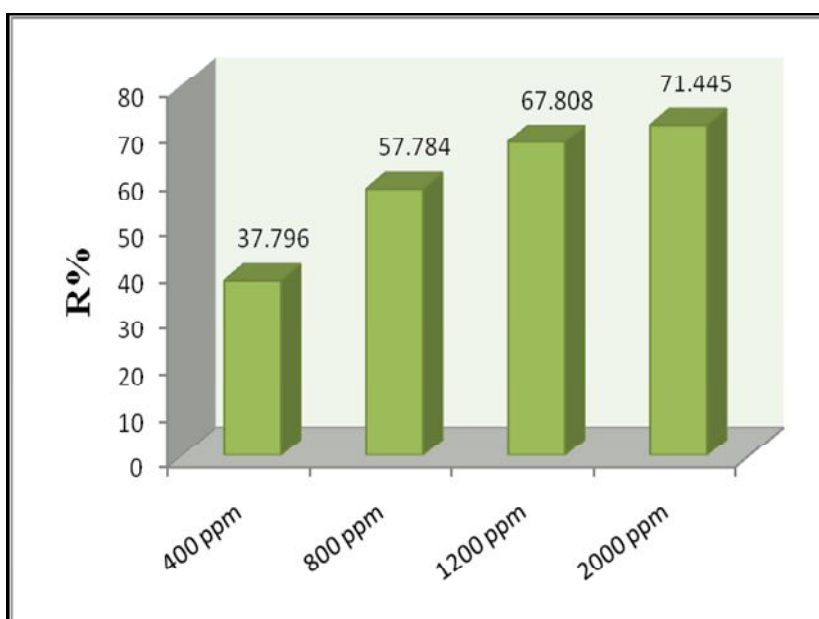


Figure VI-27. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Méthanol). (Courbes de Tafel)

Pour une température donnée, la relation entre la quantité adsorbée d'une espèce et son activité dans la phase gazeuse ou liquide en contact avec la surface s'appelle isotherme d'adsorption. Le plus utilisé parmi ces isothermes, celui de Langmuir, qui est donné par l'équation suivante :

$$C/\theta = C_{te} + C.$$

Le tracé des valeurs de C/θ en fonction de C , nous permet de voir si nos extraits suivent l'isotherme de Langmuir lors leur déposition sur la surface de l'électrode de travail ou non.

(Figures VI-28 et VI-29).

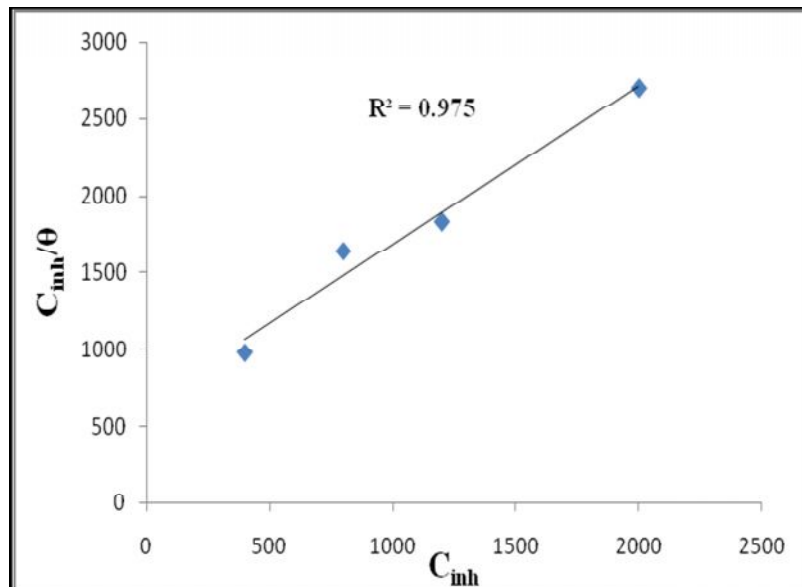


Figure VI-28. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Acétone).

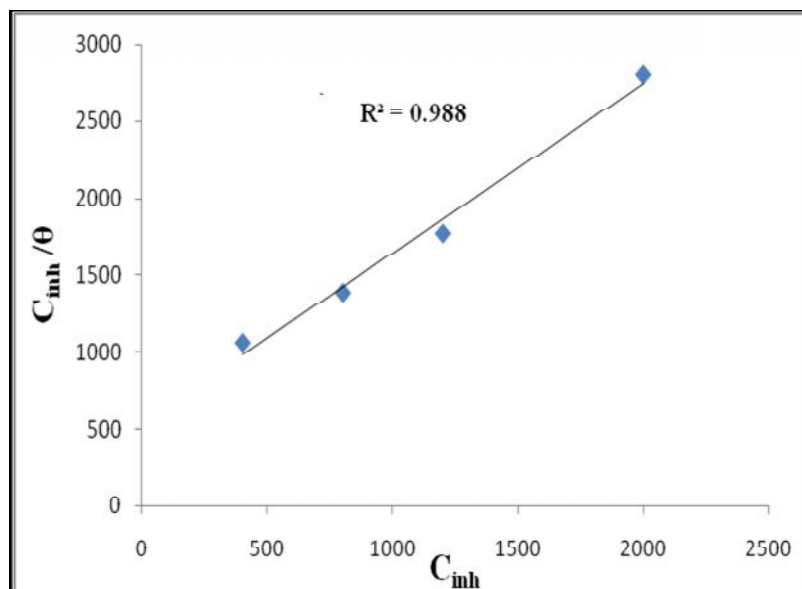


Figure VI-29. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Méthanol).

A partir de ces résultats, on remarque d'après les droites de Tafel que pour les deux extraits phénoliques l'augmentation de la concentration conduit à :

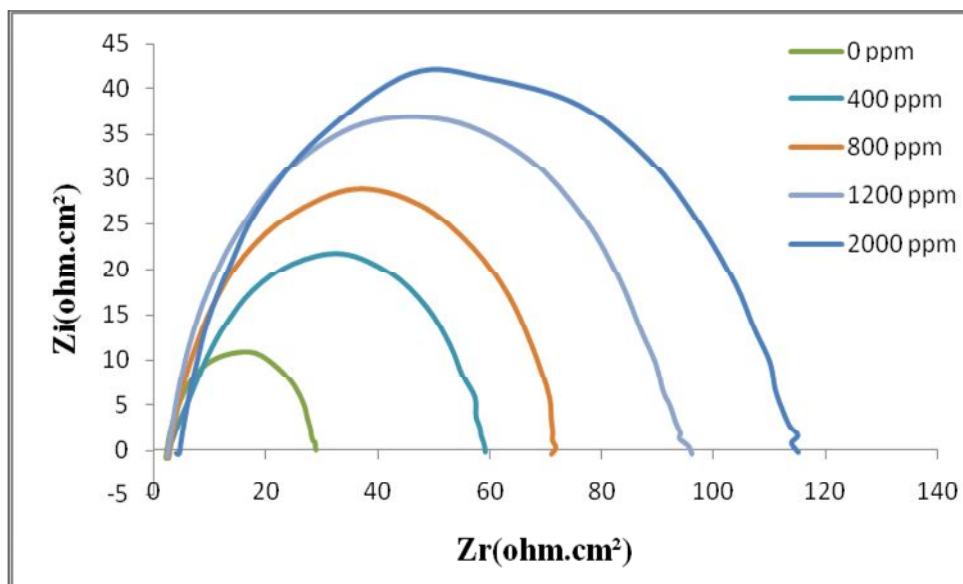
- une augmentation du rendement de l'inhibition, jusqu'à ce qu'il atteigne les valeurs de 74.105% et 71.445% pour C(Acétone) et C(Méthanol) respectivement.
- Une diminution de la densité de la corrosion de la valeur de 0.5986 mA.cm² aux valeurs de 0.1473 mA.cm² et 0.1625 mA.cm² pour C(Acétone) et C(Méthanol) respectivement.

La superposition des droites de Tafel pour les deux extraits, et pour toutes les concentrations, a montré que l'addition des extraits phénoliques dans le milieu a conduit à un déplacement du potentiel de corrosion vers les valeurs négatives ce que révèle que ces extraits sont des inhibiteurs cathodiques.

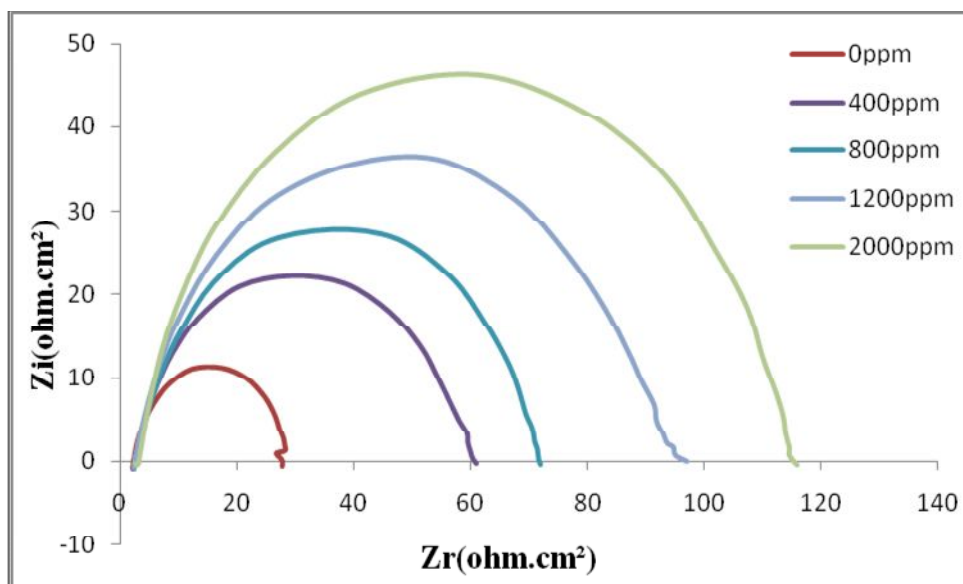
D'après les figures VI-26 et VI-27, les valeurs de R² indiquent que l'allure d'adsorption de ces extraits est du type d'isotherme de Langmuir.

b- Spectroscopie d'impédance électrochimique

Les diagrammes de Nyquist de l'Acier X52 en absence et en présence des extraits phénoliques C(Acétone) et C(Méthanol) à différentes concentrations, en milieu HCl (1N) sont rapportées dans les figures VI-30 et VI-31.



Figures VI-30. Digrammes de Nyquist à différentes concentrations de C(Acétone).



Figures VI-31. Digrammes de Nyquist à différentes concentrations de C(Méthanol).

Les résultats obtenus par l'exploitation des diagrammes de l'impédance électrochimique :
Les valeurs de la résistance de transfert de charge R_t les valeurs de la capacité du double couche

C_{dl} et les valeurs de l'efficacité inhibitrice $R\%$ pour différentes concentrations des deux extraits C(Acétone) et C(Méthanol) en milieu acide HCl (1N) sont donnés dans les tableaux VI-9 et VI-10.

Pour la méthode de l'impédance, le rendement de l'inhibition est calculé par la relation :

$$R\% = (1 - (C'_{dl} / C_{dl})) \times 100$$

Avec :

C_{dl} : Capacité de la double couche sans addition de l'inhibiteur.

C'_{dl} : Capacité de la double couche avec addition de l'inhibiteur.

C (ppm)	F (Hz)	Rt (ohm.cm ²)	C _{dl} (μF.cm ²)	R%
0	40	23.76007	4.12844	
400	40	58.9842	2.68431	34.98004
800	40	71.7509	2.12663	48.48829
1200	25	96.1234	1.54576	62.55825
2000	40	115.146	0.957053	76.81805

Tableau VI-9. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Acétone) à différentes concentrations (Méthode de l'impédance).

C (ppm)	F (Hz)	Rt (ohm.cm ²)	C _{dl} (μF.cm ²)	R%
0	40	23.76007	4.12844	
400	25	61.0016	2.98055	27.80445
800	25	71.9789	2.39602	41.96307
1200	25	96.9862	1.75836	57.40861
2000	25	115.934	1.37608	66.66828

Tableau VI-10. Les paramètres électrochimiques et l'efficacité inhibitrice du C(Méthanol) à différentes concentrations (Méthode de l'impédance).

A partir de ces résultats, la variation de l'efficacité inhibitrice des deux extraits en fonction de la concentration a été tracée et montrée dans les figures VI-32 et VI-33 suivantes.

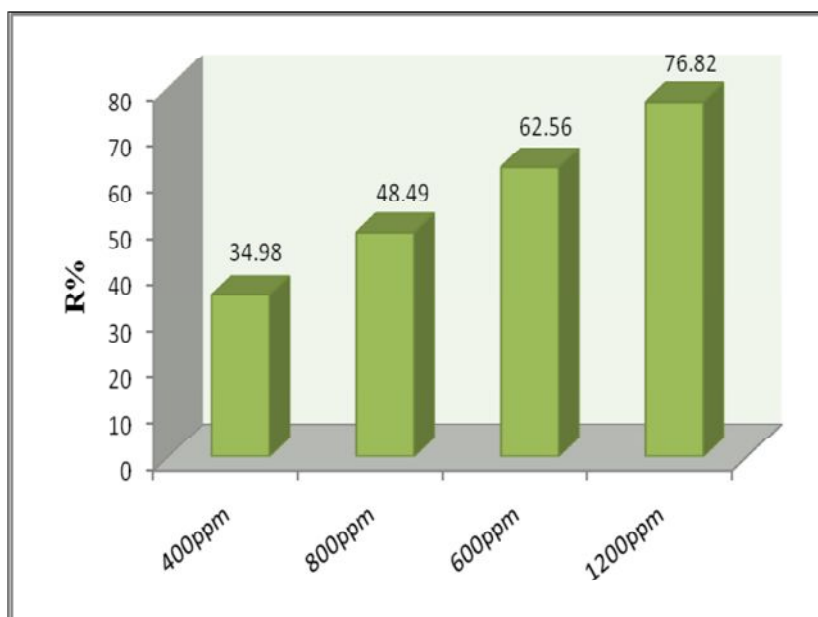


Figure VI-32. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Acétone). (Méthode de l'impédance)

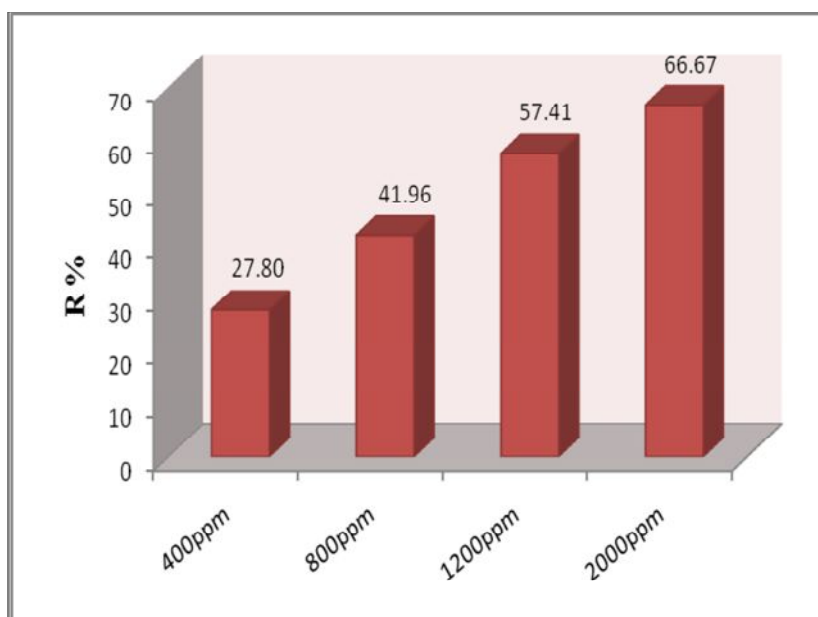


Figure VI-33. Variation de l'efficacité inhibitrice en fonction de la concentration de l'extrait C(Méthanol). (Méthode de l'impédance)

A partir de ces résultats, on remarque dans les figures VI-30 et VI-31 que les diagrammes de Nyquist qui sont caractérisés par des boucles capacitives dont leurs rayons augmentent avec l'augmentation des concentrations de l'extrait dans le milieu, accompagné d'un accroissement de la résistance au transfert de charge R_t jusqu'à atteindre les valeurs de 115.146 ohm.cm²

et 115.934 ohm.cm² avec des rendements maximaux de 76.818% et 66.866% pour C(Acétone) et C(Méthanol) respectivement (Tableaux VI-9 et VI-10) ce qui est expliqué par la formation d'un film de passivité sur la surface de l'électrode de travail.

Par analyse des figures VI-32 et VI-33 il est évident que l'augmentation de la concentration des deux extraits dans le milieu conduit à une amélioration de leur efficacité inhibitrice contre la corrosion, et pour mieux connaître le mécanisme d'inhibition.

les figures VI-34 et VI-35 montrent la linéarité entre les concentrations des extraits et leur capacité inhibitrice, suivant l'isotherme de Langmuir donc il s'agit d'une adsorption chimique.

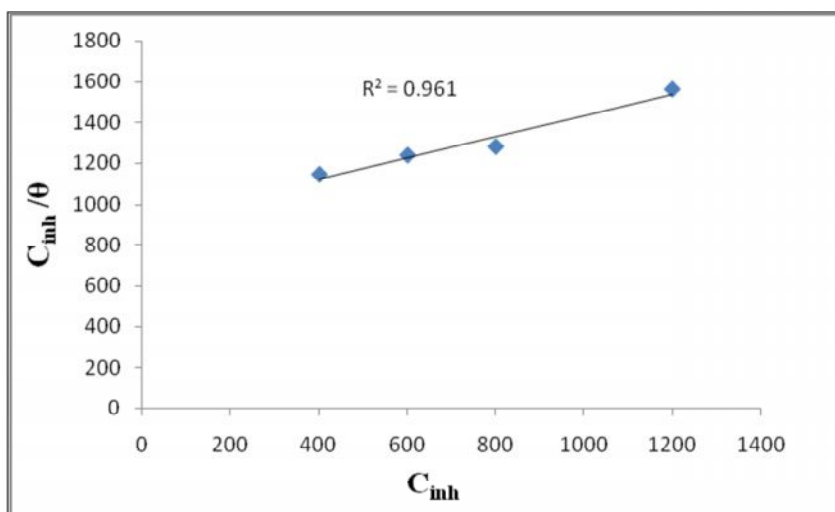


Figure VI-34. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Acétone). (Méthode de l'impédance)

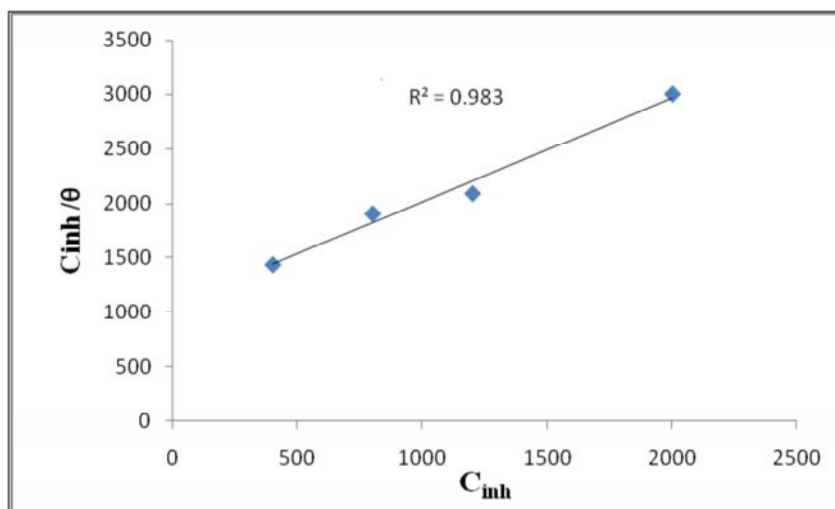


Figure VI-35. Isotherme de Langmuir de l'extrait C(Méthanol). (Méthode de l'impédance)

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquelles on attribue des capacités antioxydantes et inhibitrice de la corrosion.

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antioxydants et inhibiteurs de la corrosion des extraits phénoliques des cosses et graines de l'Acacia arabica, plante largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde.

Les résultats obtenus dans l'analyse quantitative des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) nous laissent à constater que les gousses égrenées de cette plante sont une source importante et prometteuse de polyphénols à l'encontre des graines. En parallèle, l'analyse quantitative du contenu en flavonoïdes réalisée en utilisant la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium, nous a montré que ces extraits sont pauvres en flavonoïdes.

Les résultats obtenus montrent que les composés phénoliques de la plante sont plus extractibles par l'acétone que le méthanol, car on note que la quantité la plus forte en phénols totaux vaut **275.75** mg/g dans l'extrait hydroacétonique des cosses, supérieure à la meilleure valeur enregistrée pour les extraits hydrométhanoliques qui est **259.28** mg/g, ce qui explique la présence des composés phénoliques moyennement polaires dans les cosses de l'acacia arabica.

L'évaluation de l'activité antioxydante s'est portée sur l'application de différents tests chimiques (RPA, MP, DPPH) et la voltamétrie cyclique comme méthode électrochimique.

D'après les résultats des tests chimiques, nous avons proposé différentes observations et interprétations liées à l'activité antioxydante de la plante étudiée. Tout d'abord, l'activité réductrice évaluée par le test RPA exprimé en AEAC, montrent clairement que les extraits des cosses ont le pouvoir le plus intéressant par rapport à ceux des graines, et celui de l'extrait hydrométhanolique des cosses est le plus intéressant. En comparant ce dernier avec l'acide gallique, on trouve qu'il est 5000 fois plus puissant que ce fameux antioxydant. Les valeurs d'AEAC se corrèlent positivement avec tout le contenu en phénols totaux, avec un facteur de corrélation de l'ordre $R^2 = 0.76$, par contre la corrélation est très faible en fonction de la teneur en flavonoïdes ($R^2 = -0.13$).

Les mêmes observations pour les résultats du test PM, les extraits des cosses sont toujours les plus remarquables par leur effet réducteur, notamment l'extrait hydrométhanolique,

qui est 3000 fois plus puissant que l'acide gallique. Les valeurs d'AEAC se corrélaient avec à peu près toutes les teneurs en phénols totaux ($R^2 = 0.97$), ce qui n'est pas le cas avec les flavonoïdes ($R^2 = 0.17$).

Les résultats du test de DPPH, offrent aussi un index putatif du potentiel antioxydant des extraits des cosses de la plante étudiée. On a observé des valeurs considérables d'IC₅₀ de ces extraits comparées à celle de la vitamine E, (l'extrait hydroacétonique est 4 fois plus efficient que la vitamine E), les valeurs de l'IC₅₀ se corrélaient très bien avec la teneur en phénols totaux ($R^2 = 0.99$) moyennement avec la teneur en flavonoïdes ($R^2 = 0.34$). Confirme encore que la capacité antioxydante de la plante étudiée est due à la teneur en phénols totaux, et à la présence de certaines molécules potentiellement actives.

L'activité antioxydante de nos extraits évaluée par la méthode électrochimique de la voltamétrie cyclique, a été remarquable seulement pour les extraits des cosses, spécialement l'extrait hydrométhanolique, qui a montré une efficacité 2 fois plus importante que celle de l'acide ascorbique. Les facteurs de corrélation des valeurs d'IC₅₀ par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes ($R^2 = 0.76$ et $R^2 = 0$ respectivement) révèlent que cette activité est due essentiellement à la présence de molécules phénoliques potentiellement actives. On remarque de très bonnes corrélations entre la méthode de la voltamétrie cyclique et les tests chimiques utilisés précédemment ($R^2 = 0.99$, 0.91 et 0.80 pour la RPA, PM et DPPH respectivement).

L'étude de l'activité inhibitrice des extraits des cosses de l'acacia arabica, effectuée par les deux méthodes électrochimiques : l'extrapolation des droites de Tafel et l'impédance électrochimique, a montré à travers des résultats obtenus que l'addition des ces extraits dans un milieu acide inhibe la corrosion de l'acier XC52, et l'augmentation de leurs concentrations dans le milieu corrosif conduit à la diminution de la densité de corrosion en augmentant au même temps leurs rendements de l'inhibition, les déplacements du potentiel montrent qu'ils s'agit des inhibiteurs de nature cathodique, qui suivent l'isotherme de Langmuir : l'adsorption de ces inhibiteurs sur la surface du métal est de nature chimique.

Pour mieux évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de l'acacia arabica, des études comparatives similaires doivent être appliquées sur d'autres parties de cet arbre telles que les feuilles, l'écorce et les racines afin de localiser la teneur maximale en polyphénols et d'autres métabolites secondaires ayant des effets curatifs intéressants. De même, des études approfondies sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de ces principes actifs seraient utiles pour la détermination des doses préventives et thérapeutiques.

R f r e n c e s

Bibliographiques

- [1] Lehucher-Michel, M.P., Lesgards, J.F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., Prost, M. (2001) Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. **30**: 1076-1081.
- [2] Koechlin-Ramonatxo, C. (2006) Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. Nutrition clinique et métabolique. **20**:165-177.
- [3] Bartosz, G. (2003) Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on Toxicology. **9**: 5-21.
- [4] Halliwell, B., Whiteman, M. (2004) Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean?. British journal of pharmacology. **142**: 31-2.
- [5] Kohen, R., Nyska, A. (2002) Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. Toxicologic Pathology. **30**: 620-650.
- [6] Sorg, O. (2004) Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. Comptes Rendus Biologies. **327**: 649-662.
- [7] Favier, A. (2003) Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique. 108-115 .
- [8] Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002) Physiological action of antioxidant defences. Nutrition Clinique et Métabolisme. **16**: 233-239.
- [9] Martínez-Cayuela, M. (1995) Oxygen free radicals and human disease. Biochimie. **77**: 147-161.
- [10]-Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007) . Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Biocell. **39**: 44-84.
- [11] Sohal, R.S., Mockett, R.J., Orr, W.C. (2002) Mechanisms of aging : an appraisal of the oxidative stress hypothesis, Free radical biology & medicine. **33**: 575-586.
- [12] Zweier, J.L., Talukder, M.A.H. (2006) The role of oxidants and free radicals in reperfusion Injury. Cardiovascular Research. **70**: 181-190.
- [13] Halliwell, A., Gutteridge, J.M.C. (1990) The antioxidant of human extracellular fluids. Archives of biochemistry and biophysics. **280**: 1-8.
- [14] Ahsan, H., Ali, A., Ali, R. (2003) Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. Clinical and experimental immunology. **131**: 398-404.
- [15] Denisov, E.T., Afanas'ev, I.B. (2005) IN: Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A), Pp: 703-861.

- [16] Harrison, D., Griendling, K.K., Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H. (2003) Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*. **91**: 7-11.
- [17] Pal Yu, B. (1994) Cellular defences against damage from reactive oxygen species . *Physiopathological Reviews*. **74**: 139-155.
- [18] Servais S. ,(2004). Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone. Université de Claude Bernard-Lyon 1.
- [19]-BERSET C. & CERVELIER M.E. (1996). Methods of estimationg the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Science des Aliments*, **16**, 219-245.
- [20]-PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R. & DEFRAIGNE J.O. (1998). Mesure et utilisation des antioxydants. *Journal of Medecine Sphère*, **73**, 233-239.
- [21]- Barry, H., John, G., (1999). *Free Radicals in biology and Medicine*, Oxford University Press, USA.
- [22]- Chelikani, P., Fita, I., (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 192-208.
- [23]- Chaudiere, J., 1983.Purification and characterization of selenium-glutathione peroxidase from hamster liver. *Arch Biochem; Biophys.*, **226**, 448-457.
- [24]- Ryter, S.F., Tyrrell, R.M., (2000). Heme oxygenase activity causes transient hypersensitivity to oxidative ultraviolet A radiation that depends on release of iron from heme. *Free. Radic. Biol. Med.*, **28**, 289-309.
- [25]- Halliwell, B., Am. J. (1995). Oxidation of low-density lipoproteins: questions of initiation, propagation, and the effects of antioxidants. *Clin. Nutr.*, **61**, 670-677.
- [26]- Burton, G.W., Joyce, A., (1982). First proof that vitamin E is major lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma. *Ingold, K.U., Lancet.*, **320**, 327.
- [27]- Sahnoun, Z., Jamoussi, K., Zeghal, K.M. (1997). Free radicals and antioxidants: human physiology, pathology and therapeutic aspects. *Therapie.*, **52**, 251-270.
- [28]- Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S., (2004). The antioxydants and pro-antioxydants network; an overview. *Curr. Pharm. Des.*, 2004, **10**, 1677-1694.
- [29]- Miller and Rice-Evans (1993). A nouvel method for measuring antioxydant capacity an dits application to monitoring antioxydant status in premature neonates. *Clinic Sciences*, **84**, 407-412.
- [30]-Miquel- Becker et al., (2004). Antioxydant evaluation protocols: foods quality or health effects. *Food research and technology*, **219**, 561-571.
- [31]- Sanchez-Moreno et al. (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. *Food science and technology international*, **4**, 391-399.

- [32]-FASSEAS M.K., MOUNTZOURIS K.C., TARANTILIS P.A., POLISSIOU M. & ZERVAS G. (2007). Antioxydant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food chemistry*, **106**, 1188-1194.
/TRM /2002.1.
- [33]-ANTOLOVICH M, PRENZLER P.D, PATSALIDES E., McDONALD S & ROBARDS K. (2002). Methods for testing antioxydant activity. *The royal Society of Chemistry Analyst*, **127**, 183-192.
- [34]- CORBO M.R., LANCIOTTI R., GARDINI F. & SINIGLAGLIA GUERZONI M. E. (2000). Effects of Hexanal, trans-2-Hexanal and storage Temperature on Shelf Life of Fresh Sliced Apples. *Journal of agricultural and food chemistry*, **48**, 2401-2408.
- [35] OMS. Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. WHO /EDM
- [36] Anne-Laure (2002). Phytochemical investigation of plants used in African traditional medicine: “*Dioscorea sylvatica*” (Dioscoreaceae), “*Urginea altissima*” (Liliaceae), “*Jamesbrittenia fodina*” and “*J. Elegantissima*” (Scrophulariaceae). Thèse de Doctorat, Université de Lausanne..
- [37] Brenan, J.P.M., (1983). Manual on taxonomy of Acacia species: present taxonomy of four species of Acacia (*A. albida*, *A. senegal*, *A. nilotica*, *A. tortilis*). FAO, Rome, Italy. 47 pp.
- [38] Ozenda P. Flore et végétation au sahara, 3^{ième} édition, CNRS 1991-2001, Paris, p 283.
- [39] Sheikh, M.I., (1989). *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del. Its production, management and utilization. FAO/Regional Wood Energy Development Program in Asia (GCP/RAS/111/NET), Bangkok, Thailand. 45 pp.
- [40] http://www.sahara-nature.com/album/index.php?/category/332-cacia_nilotica_tomentosa
- [41] Raymond, W.D., (1951). The use of Acacia pods and bark as tanning materials. *Colonial Plants and Animal Products* (Tropical Products Institute, London) **2**: 285–291.
- [42] Nonaka, G., (1989). Isolation and structure elucidation of tannins. *Pure and Applied Chemistry* **61**: 357–360.
- [43] Krishan, B. & Toky, O.P., (1995). Variation in foliar biochemical and nutrient contents among provenances of *Acacia nilotica* ssp. *indica*. *Journal of Tropical Forest Science* **8(1)**: 78–86.
- [44] Ayoub, S.M.H., (1985). Flavanol molluscicides from the Sudan acacias. *International Journal of Crude Drug Research* **23(2)**: 87–90.
- [45] Imperial Institute, (1930). New colonial and other tanning materials. *Bulletin of the Imperial Institute* (UK) **28(1)**: 1–6.
- [46] Mucedo, J.Z.A. & Waterman, P.G., (1992). Sources of tannin: alternatives to wattle (*Acacia mearnsii*) among indigenous Kenyan species. *Economic Botany* **46(1)**: 55–63.

- [47] Burkill, H.M., (1995). The useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Volume 3, Families J–L. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. 857 pp.
- [48] Vantomme, P., Markkula, A. & Leslie, R.N., (2002). India. In: Non-wood forest products in 15 countries of tropical Asia. An overview. EC-FAO Partnership Programme, FAO Forestry Department, Rome, Italy. pp. 57–72.
- [49] Ramesh Rao, K. & Purkayastha, S.K., (1972). Indian woods, their identification, properties and uses. Volume 3. Leguminosae to Combretaceae. Manager of Publications, Delhi, India. 262 pp.
- [50] Anderson, D.M.W., Hirst, E. & Stoddart, J.F., (1967). Studies on uronic acid materials. Part 21. Some structural features of *Acacia arabica* gum. *Journal of the Chemical Society* **16C**: 1476–1486.
- [51] Sheikh, M.I., (1989). *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del. Its production, management and utilization. FAO/Regional Wood Energy Development Program in Asia (GCP/RAS/111/NET), Bangkok, Thailand. 45 pp.
- [52] Tindale, M.D. & Roux, D.G., (1975). Phytochemical studies on the heartwoods and barks of African and Australian species of *Acacia*. *Boissiera* **24**: 299–305.
- [53] Wulijarni-Soetjipto, N. & Lemmens, R.H.M.J., (1991). *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del. In: Lemmens, R.H.M.J. & Wulijarni-Soetjipto, N. (Editors). *Plant Resources of South-East Asia No 3*. Dye and tannin producing plants. Pudoc, Wageningen, Netherlands. pp. 45–48.
- [54] Adewoye, R.O. & Rao, J.B., (1977). *Acacia nilotica* variety *adansoni* pods (bagaruwa) of Nigeria. *Leather Science* **24**: 229–231 (part 1), 293–301 (part 2).
- [55] Von Maydall H. J., (1983). Arbres et arbustes du Sahel, leurs caractéristiques et leurs utilisations. Ed.: GTZ, 531p.
- [56] Ouadah Y. (1981-1982). Contribution à l'étude de principales essences d'intérêt fourrager des régions semi-arides et arides d'Algérie. , 1981-1982. Thèse d'ingénieur d'état en Agronomie, 99p.
- [57] Watt, J.M. & Breyer-Brandwijk, M.G., (1962). The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa. 2nd Edition. E. and S. Livingstone, London, United Kingdom. 1457 pp.
- [58] Gilani, A.H., Saheen, F., Zaman, M., Janbaz, K.H., Shah, B.H. & Akhtar, M.S., (1999). Studies on antihypertensive and antispasmodic activities of methanol extract of *Acacia nilotica* pods. *Phytotherapy Research* **13**: 665–669.
- [59] Dafallah, A.A. & Al-Mustafa, Z., 1996. Investigation of the anti-inflammatory activity of *Acacia nilotica* and *Hibiscus sabdariffa*. *American Journal of Chinese Medicine* **24(3–4)**: 263–269.

- [60] Anis, M. and Iqbal, M. (1994). Medicinal plant lore of Aligarh, India. *Int. J. Pharmacog.* 32 (1): 59-64.
- [61] Prajapati, N.D., Purohit, S.S., Sharma, A.K. and Kumar, T. (2007). *A Handbook of Medicinal Plants*. Jodhpur, Agrobios (India), Section-II, pp. 1-554.
- [62] Jain, S.K. (1991). *Dictionary of Indian Folk Medicine and Ethnobotany*. New Delhi, Deep Publications, pp. 1-311.
- [63] Fleuriet A., (1982). Expression et régulation du métabolisme des dérivés hydroxycinnamiques au cours de la croissance *Thèse Doc. Etat*, Montpellier.
- [64] Yusuf Y., (2006). Catechins in foods, *Trends Food Science Technology* .,17, 64-71.
- [65] Bloor S. J., (2001). Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Method. Enzymol.*, 335, 3-14.
- [66] Harborne J.B., (1980). Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series, vol 8, 329-402.
- [67] Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P., (2006). Les Polyphénols en agroalimentaire, *Lavoisier*, 1-28.
- [68] Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). *Editions Tec & Doc Lavoisier*, 1120p.
- [69] Radi M., Qninba A., Dakki M. et Thévenot M., (2004). Nidification de la Mouette rieuse *Larus ridibundus* et de la Sterne hansel *Sterna nilotica* dans le lac barrage d'El Massira (Maroc central). *Alouda* 72(1): 53-58.
- [70] Brouillard R. (1986) - Organisation des anthocyanes dans leurs sites naturels ; in : 13ème Conférence internationale du Groupe Polyphénols. – Montpellier, 13, 76-94.
- [71] Haslam E., (1996). Natural Polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat. Prod* ,59, 205-215.
- [72] Dangles O., (2006). The physico-chemical properties of polyphenols. *Agrofood industry Hi-tech Lavoisier*, 29-50.
- [73] Maillard M. N., (1996). Antioxydant activity of barely and Malt; relationship with phenolic content, *Thèse Doct.*, E.N.S.IA., Paris, 148p.
- [74] Fukai K, Ishigami T, Hara Y (1991) Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacteria. *Agric Biol Chem* 55, 1895-1897
- [75] Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants ; a personal view. *Nutr. Rev.*, 52, 253- 265.
- [76] Haslam E., (1996). Natural Polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat. Prod* ,59, 205-215.

- [77] Havesteen, 2002. The biochemistry and medicinal significance of the flavonoids. *J. Pharmacol. Therap.*, **96**, 67-202.
- [78] Monien B.H. Henry B.L., Raghuraman A., Hindle M., Desai U. M., 2006. Novel chemo-enzymatic oligomers of cinnamic acids as direct and indirect inhibitors of coagulation proteinases. *J. Bioorg.Med. Chem.*, **14**, 7988-7998.
- [79] Dangles O., Dufour C., 2006. *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*, Eds O. Andersen and K. Markham, CRC Press, Boca Raton. Chapter **9**, p 443-469.
- [80] Dangles O., Dufour C., 2008. *Recent advances in Polyphenol Research*. Chapter **3**, 67-87.
- [81] Hanasaki Y., Ogawa S., Fukui S., 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical. Biol. Med.*, **16**, 845-850.
- [82] Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Van-Poel B., Pieters L., Vlietinck A.J., Vanden Berghe, 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod.*, **61**,71 -76.
- [83] Hider R.C, Liu. Z. D., Khoder H.H., 2001. Metal chelation of polyphenols. *Method. Enzymol.*, **335**, 190-203.
- [84] Brown J. E., Khodr H., Hider R.C., Rice-Evans C. 1998. Structure dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem. J.*, **330**, 1173-1178.
- [85] Morris C.J., Earl J.R., Trenam C.W., Blake D.R., 1995 Reactive oxygen species and iron--a dangerous partnership in inflammation. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **27**, 109-122.
- [86] Van Acker, S.A.B.E., van den Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., van Bennekom, W.P., van der Vijgh, W.J.F., Bast, A., 1996 . Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical. Biol. Med.* ,**20**, 331-342.
- [87] Jovanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M.G.,1994. Flavonoids as antioxydants. *J. Am. Chem.Soc.*, **116**, 4846-4851.
- [88] Pietta P. G., 2000. Flavonoids as antioxydants. *J. Nat. Prod.*, **63**, 1035-1042.
- [89] Rice-Evans C.A., Miller N. J., Paganga G., 1996. Structure- antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolics acids. *Free Radical. Biol. Med.* ,**20**, 933-956.
- [90] Dugas A.J.,Castaneda-Acosta J., Bonin G.C., Price K.L., Fischer N.H., Winston G.W., 2000. Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships *J. Nat. Prod.*, **63**, 327-31.
- [91] Bors W., Michel C., Stettmaeir K., 1990. Flavonoids as antioxydants: determination of radical scavenging effeciencies. *Methods of enzymology*, **186**, 343-355.

- [92] Cuvelier M-E., 1992. Mesure de l'efficacité des antioxygènes d'origine végétale: recherche des composés actifs de la sauge. Thèse des Sciences ENSIA de Massy.
- [93] Farkas O., Jakus J., Héberger K., 2004. Quantitative structure- antioxidant activity relationship of flavonoid compounds, *Molecules*, **9**, 1079-1088.
- [94] Thumann V.F. & Herrman K.,1980. *Deut Lebensm-Rundsch* ,**76**, 344-347.
- [95] BERSET C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* **28**: 25-30.
- [96] Miller N.J, Rice-Evans C.A, Davies M.J., Gopinathan V., Milner A.,1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status of premature neonates. *Clin. Sci.* ,**84**, 407-412.
- [97] Bors W., Heller W., Michel C., Saran M., 1990. Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies.*Method. Enzymol.*, **186**, 343-355.
- [98] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Rev. Life Sci.*, **65**, 337-53.
- [99] Landolfi R., Mower R.L., Steiner M., 1984. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochem Pharmacol*, **33**, 1525-1530.
- [100] Ward J., 1994. *Austr. J. Physic.*, **23**, 1297-301.
- [101] Limasset B., Doucen C., Dore J. Ch., Ojasoo T., Damon M., de Paulet A. C., 1993. Effect of flavonoids on the release of reactive oxygen species by stimulated human neutrophils. Multivariate analysis of structure-activity relationships (SAR). *Biochem. Pharmacol.*, **46**, 1257-1271.
- [102] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Rev. Life Sci.*, **65**, 337-53.
- [103] Izzo A.A., 1996. PAF and the digestive tract. *Rev. J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 1103-1111.
- [104] Bracke M., Vyncke B., Opdenakker G., Foidart J.M., De Pestel, G., Mareel, M., 1991. Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion *in vitro*. *Clin. Exp. Metastasis.*, **9**, 13-25.
- [105] Jodoin J., Demeule M., Béliveau R., 2002. Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein activity by green tea polyphenols, *J. Biochem. Biophys. Acta*, **1542**, 149-159.
- [106] Scutt A., Meghji S., Canniff J.P., Harvey W. , 1987. Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis. *Experientia.*, **43**, 391- 393.
- [107] Makimura M., Hirasawa M., Kobayashi K., Indo, J., Sakanaka S.,Taguchi T.,Otake S.,1993 Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity. *J. Periodontol*, **64**, 630-636.

- [108] Duthie G. G., Duthie S. J., Kyle J. A. M., 2000. Plant polyphenols in cancer and heart disease: Implications as nutritional antioxidants. *Nut. Res. Rev.*, **13**, 79- 106.
- [109] Ong K.C., Khoo H.E., 1997. *Gen. Pharmacol.*, **29**,121-126.
- [110] Ong K.C., Khoo H.E., 2000. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sci.*, **67**, 1695-1705.
- [111] Hertog M.G., Feskens E.J., Hollman P.C., Katan M.B., Kromhout D.,1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study *Lancet*, **342**,1007-1011.
- [112] Yann C.& Ramaroson A., 2005. *Pharmacol.Rep.*, **57**, 97-107.
- [113] Goodarzi1 M. T., Zali F., Malakooti M., Safari1 M. R., Sadeghian1 S., 2006. *Acta Medica Iranica* , **44**, 41-45.
- [114] Chu S.C., Hsieh Y.S., Lin J.Y., 1992. Inhibitory effects of flavonoids on Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase activity. *J Nat Prod.*, **55**, 179-183.
- [115] Laughton M.J., Halliwell.B., Evans P.J., Houlst J., Robin S., 1989. Antioxidant and proantioxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin; Effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin dependant damage to DNA *Biochem. Pharmacol.*, **38**, 2859-2865.
- [116] Kessler M., Ubeau G., Jung L. 2002. *J. Pharm. Pharmacol*, **55**, 1-11.
- [117] Yen G.C., Chen H.Y., Peng H.H., 1997. Antioxidant and pro- oxidant effects of various tea extracts *J. Agr. Food Chem.*, **45**, 30-34.
- [118] Aruoma O.I., Murcia A., Butler J., Halliwell B., 1993. Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its deriva- tives. *J. Agric. Food. Chem.*, **41**, 1880-1885.
- [119] Kobayashi H., Oikawa S., Hirakawa K. Kawanishi S., 2004. Metal-mediated oxidative damage to cellular and isolated DNA by gallic acid, a metabolite of antioxidant propyl gallate. *Muta. Res.*, **558**, 111-120.
- [120] Gow-Chin Yen, Pin-Der Duh, Hui-Ling Tsai, 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *J. Food. Chem.*, **79**, 307-313.
- [121] Cook N. C. & Samman S., 1996. Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *J. Nutr. Biochem.*, **7**, 66-76.
- [122] Nestor Perez. 2004. Electrochemistry and corrosion science. Created in the united states of America.
- [123] Khoukhi Faiza, 2007/2008. mémoire de Magister. Université de M'Hamed Bouguara Boumerdès.. Pages (22-50)

- [124] A. ZEGHLOUL Mécanismes d'endommagement des structures métalliques, disponibles sur : www.mim.univ-metz.fr/formation/documents/1/cours DM-Luno.pdf PP.5-39.
- [125] CEFRACOR. 2003. Matériaux métalliques : phénomène de corrosion, quatrième partie : les différentes formes de corrosion aqueuse. CEFRACOR, PP.75-86 ; disponible sur : <http://www.cefracor.org/doc/cours-04/pdf>
- [126] Corrosion et protection, disponible sur : <http://www.motorsstors.com/PDF/docssurlacorrosion.pdf>
- [127] G P. ROTHWELL. 2003. Corrosion Phenomena in introduction, NPL, PP.1-9, disponible sur : http://www.npl.co.uk/lmm/docs/introduction_to-corrosion_phenomena.pdf
- [128] HANANE EL NADJAR. 2002. Etude comparative entre les méthodes électrochimiques, polarographiques et pondérales : application à l'évolution de l'efficacité des inhibiteurs de corrosion. Mémoire de Magister, université de Tizi Ouzou. Algérie ; PP.7-22.
- [129] C. Fiaud, C. Lemaitre, N. Pébère, 2002. *Corrosion et anticorrosion*, chapitre 13. Lavoisier, Paris,
- [130] NACE Glossary of corrosion Terms. (1965) *Materials Protection*, **4**, 79.
- [131] D. Landolt. 1997. *Corrosion et chimie de surfaces des métaux*. Presses polytechniques et Universitaires Romandes, **Vol. 12**, Lausanne,
- [132] G. TrabANELLI, V. Carassiti, 1970. *Corrosion Science and Technology*, Plenum Press, New York,
- [133] S. Bradford, 1992. *Corrosion and Protection*, Van Nostrand Reinhold, New York,
- [134] Christian FIAUD. Inhibiteur de corrosion. *Technique de l'ingénieur, traité métallurgie*.
- [135]. J.BENARD, A.MICHEL, J.philibert et J.TALBOT. 1969. *Métallurgie générale*, édition MASSON
- [136] Franger S., (2001). Synthèse, caractérisation et étude des propriétés électrochimiques de nouveaux oxydes de manganèse pour électrode positives d'accumulateurs au lithium, thèse de doctorat, Université Paris 6
- [137] Surme Y., Gurten A.A., Bayol E. et Ersoy E., (2009). Systematic corrosion investigation of various Cu-Sn alloys electrodeposited on mild steel in acidic solution: Dependence of alloy composition, *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. **485**, 98-103,
- [138] Trachli B., (2001). *Corrosion et protection des bronzes recouverts de patine : étude électrochimique 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),

- [139] Rahmouni K., (2005). Corrosion et protection des bronzes recouverts de patine : étude électrochimique 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)
- [140]. Zoltowski P., (1998). On the electrical capacitance of interfaces exhibiting constant phase element behaviour, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Vol. **443**, 149-54,
- [141]. Boukamp B.A., den Otter M.W. et Bouwmeester H.J.M., (2004). Transport processes in mixed conducting oxides: combining time domain experiments and frequency domain analysis, *Journal of Solid State Electrochemistry*, Vol. **8**, 592-98,
- [142]. Gassa L.M., Vilche J.R., Ebert M., Juttner K. et Lorenz W.J., (1990). Electrochemical impedance spectroscopy on porous electrodes, *Journal of Applied Electrochemistry*, Vol. **20**, 677-85,
- [143]. Barcia O.E., D'Elia E., Frateur I., Mattos O.R., Pebere N. et Tribollet B., (2002). Application of the impedance model of de Levie for the characterization of porous electrodes, *Electrochimica Acta*, Vol. **47**, 2109-16,
- [144]. de Levie R., (1964). On porous electrodes in electrolyte solutions--IV, *Electrochimica Acta*, Vol. **9**, 1231-45,
- [145]. Gabrielli C. et Keddam M., (1996). Contribution of electrochemical impedance spectroscopy to the investigation of the electrochemical kinetics, *Electrochimica Acta*, Vol. **41**, 957-65,
- [146]. Jafarian M., Gopal F., Danaee I., Biabani R. et Mahjani M.G., (2008). Electrochemical studies of the pitting corrosion of tin in citric acid solution containing Cl, *Electrochimica Acta*, Vol. **53**, 4528-36,
- [147]. Li P., Tan T.C. et Lee J.Y., (1996). Impedance spectra of the anodic dissolution of mild steel in sulfuric acid, *Corrosion Science*, Vol. **38**, 1935-55,
- [148]. MOKHBI .Y.- CHAOUICHE. K, 2005/2006; *synthèse et étude électrochimie de quelque dérivé ferrocénique* ; mémoire de fin d'étude d'ingénieur ; génie des procédés, (université kasdi merbah Ouargla).
- [149]. Marian Naczek et Freidoon Shahidi (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, **1054**:95-111.
- [150]. KI Won Lee, Young Jun Kim, Hyong Joo Lee et Chang Yong Lee (2003). Cocoa Has More Phenolics Phytochemicals and a Higher Antioxydant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultur. Food Chem*, **51**: 7292-7295.
- [151]. Megala J., Geetha A., 2010. Free radical-scavenging and H⁺, K⁺, -ATPase inhibition activities of *Pithecellobium dulce*, *Food Chemistry* **121**, 1120-1128.
- [152]. Bougatef A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y., Nasri M., 2009. Antioxydant and Free Radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelous*)

muscle protein hydrolydates obtained by gastrointestinal protease, *Food Chemistry* **114**, 1198-1205.

[153]. Jayaprakasha G.K., Jaganmohan Rao L., Sakariah K.K., 2006. Antioxydant activities of curcumin, dimethoxycurcumin and bis- dimethoxycurcumin, *Food Chemistry* **98**, 970-974.

[154]. Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P. (2005) Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. **89**: 411-420.

[155]. Sanchez-Moreno, C. (2002) Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. **8**: 121-137.

[156]. Travaux pratiques de chimie analytique / Chimistes et Biochimistes 3 année / 2004-2005

[157]. MATSUDA (H.) et AYABE (Y.), 1955 – Zur theorie der Randles-Sevcikschen kathodenstrahl-polarographie. *Zeit. Elektrochem.* **59**,

[158]. S.V. Jovanovic, S. Steenken, M. Tosic, B. Marjanovic, M.G. Simic, *J. Am. Chem. Soc.* **116** (1994) 4846–5485.

[159]. J.P. Hu, M. Calomme, A. Lasure, T. De Bruyne, L. Pieters, A. Vlietinck, D.A. Vanden Berghe, 1995. Structure activity relationship of flavonoids with superoxide scavenging activity. *Biol. Trace Elem. Res.* **47** 327–331.

[160]. N. Cotelle, P. Hapiot, J. Pinson, C. Rolando, H. V'ezin, 2005. Polyphenols deriving from chalcones: Investigations of redox activities. *J. Phys. Chem. B* **109** 23720–23729.

Annexe

Le matériel utilisé dans la partie expérimentale, est décrit ci-après :

Solvants et produits chimiques :

Produits	propriétés
Méthanol	Pureté de 99% Biochem Chemopharma
Acétone	Pureté de 99% Merk
Eau bi distillée	
Ether de pétrole	d=0,65
Acétate d'éthyle	d=88,1, 99,8%, C ₄ H ₈ O ₂
Ethanol	95%, d=46,7
Sulfate d'ammonium	SO ₄ (NH ₄) ₂ , d=132,14
Acide ortho- phosphorique	H ₃ PO ₄ (85%) Riedel
Acide chlorhydrique	P=36% d=1.178 M=36.5 g/mol
Réactif de Folin	d=1,22
DMF	
Na ₂ CO ₃	d=105,99, 99,8%

Verrerie et petit matériel:

Ampoules à décanter (figure A.1).

Ballons

Erlenmeyer

Fioles de 10ml, 20ml, 50ml et 100ml.

Bêchers de 50ml, 100ml.

Pipette de 1ml, 10ml, 25ml.

Tubes à essai.

Entonnoirs.

Para film

Papier verre

Spatule

Cuvette de spectrophotomètre.

Papier aluminium.

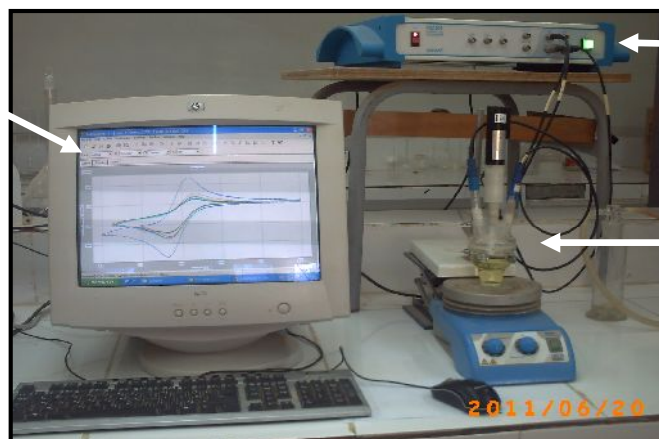


Figure A-1. Extraction des polyphénols.

Equipement et appareils de mesure

L'appareil	propriétés
Balance électrique	OHAUS, 0,0000g
Etuve sous vide	LDO-080N, $T_{\max} = 320^{\circ}\text{C}$
Rotavapeur	R-210 Buchi, $T_{\max} = 95^{\circ}\text{C}$
UV-visible	IMS, N°021, 10v-AC, 24w
Micropipette	SL-plus 100
Spectrophotomètre UV-Visible	80 DV (figure A-2)
Montage pour voltamétrie cyclique (Figure A-3)	Ordinateur, cellule électrochimique à trois électrodes (Figure A-4) et appareil PGZ301
Montage pour les courbes de polarisation et l'impédance	Ordinateur, cellule électrochimique à trois électrodes (Figure A-5) et appareil PGZ301

Micro ordinateur



PGZ 301

Cellule électrochimique

Figure A-3. Montage pour la voltamétrie cyclique

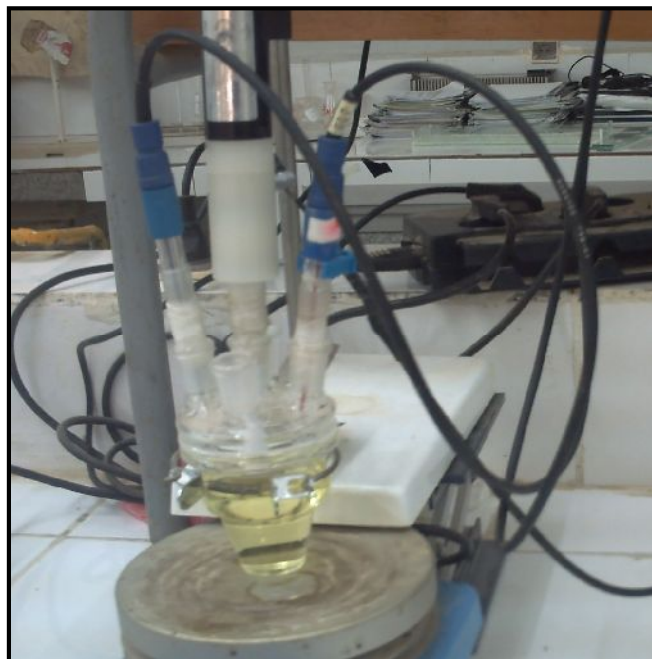


Figure A-4. Cellule électrochimique et électrodes utilisés en voltamétrie cyclique.

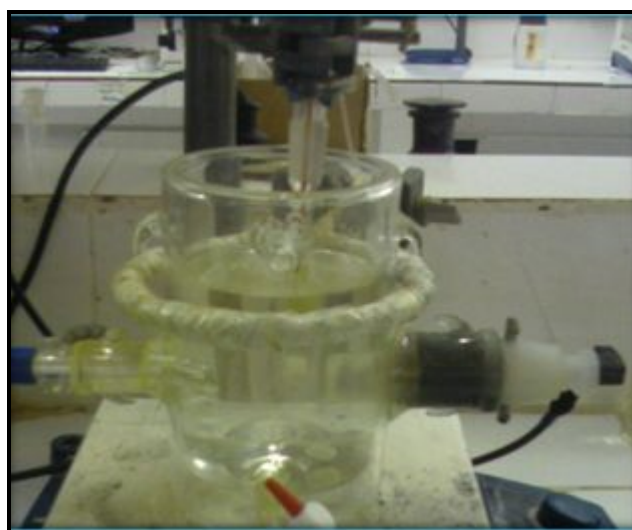


Figure A-5. Cellule électrochimique et électrodes utilisés en mesures d'impédance.

Pour les électrodes utilisées dans le montage de la voltamétrie cyclique :

1-électrode de travail : où s'effectue la réaction redox, c'est une microélectrode de carbone vitreux de diamètre de 3 mm, attaché à une tige, lavé avant chaque enregistrement avec de l'acétone et nettoyé par un papier abrasif.

2-électrode auxiliaire : est une électrode de platine

3-électrode de référence : électrode de calomel saturé de KCl (E_{ECS})

Celles utilisées pour étudier le phénomène de la corrosion sont :

1-électrode de travail : ou s'effectue la réaction redox, elle est en acier X52 (dont la composition chimique est donnée dans le tableau A-1), de forme cylindrique d'un diamètre de 1cm².

2-électrode auxiliaire : est une électrode de platine

3-électrode de référence : électrode de calomel saturé de KCl (E_{ECS})

C	Si	Mn	p	S	Cr	Mo	Ni	Al
0,1038	0,1261	0,971	<0,0021	0,0021	<0,0100	<0,005	<0,0050	0,0320
Co	Cu	Nb	Ti	V	W	Sn	Fe	
<0,0500	<0,0100	0,0419	0,0025	<0,005	<0,0500	<0,0050	<98,7	

Tableau A-1. Composition chimique de l'Acier X52.

Polissage de l'électrode de travail (tafel et IE) :

Pour éliminer les pellicules d'oxyde ainsi que les différents dépôts qui se forment sur la surface des électrodes afin que celles-ci soient leurs plans lisses et uniformes, le polissage doit être effectué avant chaque essai électrochimique.

Parmi les différentes méthodes de polissage, nous avons utilisé le polissage mécanique puis on continue manuellement à l'aide du papier émeri à différents degrés de granulation (400 à 4000) suivi d'un lavage à l'eau distillée afin d'éliminer les produits d'abrasion, enfin on sèche l'électrode.