

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie



Mémoire présenté par

RIAD Nacera

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie des Substances Naturelles

Titre

Étude chimique de la fraction volatile de l'algue brune
Dictyopteris membranaceae: Détermination de l'activité
antimicrobienne et de l'activité inhibitrice de la corrosion
de l'Aluminium

Soutenu publiquement le 05 juin 2016 devant le jury composé de :

Y. Daghbouche	Pr	Présidente	Université de Blida 1
K. Boutemk	MCB	Examinatrice	Université de Blida 1
M. El Hattab	Pr	Promoteur	Université de Blida 1
R. Mehdaoui	MCB	Co/Promoteur	Université de Blida 1

Promotion 2015-2016

Remerciements

Au terme de ce travail, je remercie Dieu « Tout Puissant » pour ce qu'il m'a donné comme force pour effectuer ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement Mr M. EL HATTAB, Professeur à l'université Blida 1, de m'avoir accueillie au sein du laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, et qui, durant ces deux années m'a gratifiée de son savoir et son aide scientifique avec générosité, il m'a guidé dans mon travail et m'a aidé à trouver des solutions pour avancer.

Je tiens à remercier vivement, Mme Mehdaoui maitre de conférences qui a encadré une partie de ce travail.

Je tiens à remercier Mme Daghbouche, Professeur à la faculté des sciences université de Blida 1 pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme Boutemak, maitre de conférences qui m'a fait l'honneur de juger ce travail.

J'adresse aussi mes sincères remerciements à tous les professeurs et les enseignants pour leurs efforts et encouragement le long de ce master.

Je remercie chaleureusement M^{elle} Hamiche Sonia, M^{elle} Mebarek Leyrat pour leurs disponibilités et leurs aides précieuses.

Mes remerciements s'adressent aussi aux membres du laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et de Biomolécules, qui ont mis à ma disposition les conditions matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur soutien indéfectible et encouragement durant toute ma vie.

Qu'ils soient assurés de mon profond respect et de ma gratitude pour tous les efforts que vous avez fournis en ma faveur.

Que ce travail soit le symbole de mon grand amour, et de ma reconnaissance de leurs efforts déployés et leur soutien inoubliable durant ces années de sacrifices.

A mes sœurs Nawel, Amel, Sihem, Hadjer et Kenza, et mes frères pour leurs sacrifices et soutien.

A toutes mes amies.

Pour une sincérité si merveilleuse jamais oubliable, en leurs souhaitant tout le succès, tout le bonheur.

Aussi à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

ملخص

يركز هذا العمل على الدراسة الكيميائية والبيولوجية والنشاط المثبط لتآكل الألمنيوم في وسط حمضي ، للجزء المتبخر للطحلب البني دكتيوبتيريس مومبرناسي التي تم جلبها على مستوى شاطئ كورن دور بتييازة. تم إعداد مستخلص الايثر من الطحالب البحرية المجففة مع تحقيق عائد قدره 1%. تم الحصول على الجزء المتبخر عن طريق التقطير البخار للمستخلص الخام باستعمال تركيب دين ستارك فكان المرود حوالي 15%. التحليل الكيميائي للجزء المتبخر الذي تم بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي مقرونة بمطيافية الكتلة قد كشف على وجود 35 مركب تم تحديدها بناء على بنوك البيانات الطيفية وايلى 7، ن ب س 75ك وكذلك البيانات من الوثائق حول منتجات نقية معزولة. يتميز التركيب الكيميائي للجزء المتبخر بوجود مركبات ذات 11 ذرة كربون مثل ديكتيوبتيران، 6 بيتيل اينيل سيكلوهبتا 1-4 ديان و جزء من الهيدروكربونات ذات 15 ذرة كربون مثل ألفا كيبيران كوبان نفتلان إلى جانب مركب كبريتي و أحماض دهنية. تتركز الدراسة البيولوجية على تقييم النشاط المضاد للميكروبات للجزء المتبخر باستخدام مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة التي تظم ثمانية بكتيريا، وأظهرت النتائج نشاط قوي مثبط لنمو البكتيريا ستافيلوكوكيس أوريوس مع قياس لمنطقة التثبيط قدر ب 34 مم. أما بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات فقد أظهرت النتائج نشاط مثبط و قوي جدا بالنسبة للخميرة كونديدا أليكانس مع قياس لمنطقة التثبيط قدر ب 34 مم. بينت الدراسة الكهروكيميائية للجزء المتبخر للطحلب البني دكتيوبتيريس مومبرناسي تأثيرا مثبطا لتآكل الألمنيوم في وسط حمضي مع فعالية قدرت ب 73%.

الكلمات المفتاحية :

ديكتيوبتيريس مومبرناسي، الجزء المتبخر، (CG/MS)، التركيبية الكيميائية، النشاط المضاد للميكروبات

Résumé

Le travail porte sur l'étude chimique, la détermination de l'activité antimicrobienne et l'activité inhibitrice de la corrosion de l'aluminium de l'huile essentielle de l'algue brune *Dictyopteris membranacea*, de la famille des *Dictyotacées*, récoltée au niveau de la Corne d'Or à Tipaza.

Un extrait éthéré a été préparé à partir de l'algue sèche avec un rendement de 1 %. La fraction volatile a été préparée par hydrodistillation de l'extrait brut en utilisant le montage de Dean Starck modifié avec un rendement moyen de 15 %. L'analyse par CG/SM de la fraction volatile a permis de révéler 35 composés. L'identification des différents composés a été faite en se basant sur les banques de données spectrales (Wiley 7n.1, NBS 75k.1, Nist 02) ainsi que sur les données de la littérature. L'analyse chimique a montré que la fraction volatile renferme une fraction d'hydrocarbures en C₁₁ (dictyoptérène A, 6-but-1-ényl- cyclohepta-1,4-diène, 6-butylcyclohepta-1,4-diène), une fraction de sesquiterpènes (alpha.-Cubébène, copaène, (-)-Calamenène), un dérivé soufré et une classe d'acides gras.

L'activité antibactérienne de la fraction volatile a été évaluée sur huit souches, *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* et *Micrococcus luteus*. Cette étude a montré une forte activité antibactérienne de la fraction volatile vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 34 mm.

L'activité antifongique a été déterminée sur une levure et une moisissure. La fraction volatile a montré un pouvoir très fortement inhibiteur vis-à-vis de *candida albicans* avec une zone d'inhibition de 30 mm.

La fraction volatile a montré une certaine efficacité dans l'activité inhibitrice de la corrosion vis-à-vis de l'aluminium.

Mots clés : *Dictyopteris membranacea*, fraction volatile, CG/SM, activité antimicrobienne, activité anticorrosion

Abstract

This study is devoted to chemical study, antimicrobial activity and corrosion inhibition against aluminum of the volatile fraction of the brown alga *Dictyopteris membranacea* collected off the Corne d'Or at Tipaza. A crude ether extract was prepared from the dry alga with a yield of 1 %. The volatile fraction was prepared by steam distillation of the crude extract using the modified Dean Starck apparatus with an average yield of 15%. Analysis by GC / MS of the volatile fraction revealed 35 compounds. The identification of the compounds was based on the spectral database (Wiley 7n.l, NBS 75k.l, Nist 02) as well as the literature data. The volatile fraction contains a C₁₁ hydrocarbon fraction (dictyopterene A, 6-but-1-enyl cyclohepta-1,4-diene; 6-butylcyclohepta-1,4-diene), a sesquiterpenes fraction (alpha-Cubebene, copaene, (-)-Calamenene), a sulfur derivative compound and a class of fatty acids. The antibacterial activity of the volatile fraction was evaluated against eight strains, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Micrococcus luteus*. This study showed a strong antibacterial activity of the volatile fraction against *Staphylococcus aureus* with a diameter zone of inhibition equal to 34 mm. The antifungal activity was determined on yeast and a mold. The volatile fraction showed a very strong inhibitory power against *Candida albicans* with a diameter zone of inhibition evaluated at 30 mm. The volatile fraction has shown a relative activity in corrosion inhibition against aluminum.

Keywords: *Dictyopteris membranacea*, volatile fraction, GC / MS, antimicrobial activity, anticorrosion activity.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Phéromones isolés à partir des algues brunes	10
Tableau 2 : Pouvoir antibactérien en fonction du diamètre de la zone d'inhibition	16
Tableau 3 : Microorganismes utilisés dans le présent travail	29
Tableau 4 : Propriétés organoleptiques de l'extrait de <i>Dictyopteris membranacea</i>	35
Tableau 5: Propriétés organoleptiques de la fraction volatile de <i>Dictyopteris membranacea</i>	36
Tableau 6 : Composition chimique de la fraction volatile de <i>Dictyopteris membranacea</i>	37
Tableau 7 : Diamètre d'inhibitions obtenues pour les différents microorganismes	44
Tableau 8 : Activité antifongique de la fraction volatile de <i>Dictyopteris membranacea</i>	47
Tableau 9 : Effet de l'inhibition de la corrosion de l'aluminium en milieu HCl 1M en absence et en présence de la fraction volatile de <i>dictyopteris membranacea</i> par la méthode de gravimétrie	48

Liste des planches

Planche 1 :	Phéromones identifiées dans les algues brunes	9
Planche 2 :	Biosynthèse des hydrocarbures en C11 dans <i>Senecio isatideus</i>	12
Planche 3 :	Polyènes odorant en C11 des espèces hawaïennes du genre <i>Dictyopteris</i>	13
Planche 4 :	Sesquiterpènes de <i>Dictyopteris divaricata</i>	13
Planche 5 :	Polyènes en C11 et dérivés de <i>dictyopteris</i>	14
Planche 6 :	Produit soufrés identifiés dans le genre <i>Dictyopteris</i>	15

Liste des figures

Figure 1 :	<i>Dictyopteris membranacea</i> (Stackhouse)	6
Figure 2 :	Répartition des diterpènes dans les macroalgues	8
Figure 3 :	Classement des inhibiteurs de corrosion	19
Figure 4 :	Photo personnelle de l'algue brune <i>Dictyopteris membranacea</i>	24
Figure 5 :	Préparation de l'extrait à partir de la matière végétale	25
Figure 6 :	Montage de Dean-Stark modifié	26
Figure 7 :	Préparation de la fraction volatile à l'aide du montage de Dean-Starck	27
Figure 8 :	Montage de mesure de potentiel et les courbes de polarisation	32
Figure 9 :	(A) : électrode de travail (B) : électrode en platine (C) : électrode de référence	33
Figure 10 :	Détermination des paramètres électrochimiques à partir des droites de Tafel	34
Figure 11 :	Profil chromatographique d'analyse de la fraction volatile de <i>Dictyopteris membranacea</i>	41
Figure 12 :	Activité antibactérienne de la fraction volatile de <i>Dictyopteris membranaceae</i> contre : A : <i>Bacillus cereus</i> , B : <i>Basillus subtilis</i> , C : <i>Staphylococcus aureus</i> , D : <i>Eschirichia Coli</i> , E : <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , F : <i>Listeria monocytogenes</i> , G : <i>Micrococcus luteus</i> , H : <i>Salmonella enterica</i>	45
Figure 13 :	Activité antifongique de la fraction volatile de <i>Dictyopteris membranacea</i> contre I : <i>Candidat Albicans</i> , J : <i>Aspergillus Brasiliensis</i>	47
Figure 14 :	Evolution du potentiel de corrosion $E_{corr}=f(t)$ de l'Al 2017 dans HCl 1M en absence et en présence de l'huile et l'extrait	49
Figure 15 :	Courbes de polarisation de l'Al 2017 dans HCl 1M en absence et en présence de l'huile et l'extrait.	50

SOMMAIRE

Remerciements	I
Dédicaces	II
ملخص	III
Résumé	IV
Abstract	V
Liste des abréviations	VI
Liste des tableaux	VII
Liste des planches	VIII
Liste des figures	IX
Introduction générale	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
I.1 Généralité sur les algues	4
I.1.1 Classification des algues	4
I.1.2 Répartition des algues	5
I.1.3 Etude systématique de l'espèce <i>Dictyopteris membranacea</i>	5
I.2 Composition chimique des algues brunes	7
I.2.1 Généralité sur les terpènes	7
I.2.2 Terpènes des algues brunes	7
I.3 Composés volatils des algues brunes	8
I.3.1 Pheromones des algues brunes	9
I.3.2 Biosynthèse des hydrocarbures en C ₁₁	11
I.4 Composition chimique des espèces du genre <i>Dictyopteris</i>	12
I.5 Hydrocarbures soufrés à partir du genre <i>Dictyopteris</i>	14
I.6 Activités biologiques des huiles essentielles et fractions volatiles des algues brunes	15
I.6.1 Activité biologique des extraits et des fractions volatiles de <i>Dictyopteris membranacea</i>	16
I.7 Détermination du pouvoir d'inhibition de la corrosion de fraction volatile	17
I.7.1 Introduction	17
I.8 Les inhibiteurs de corrosion	18
I.8.1 Propriété essentiel d'un inhibiteur de corrosion	18
I.8.2 Classes d'inhibiteurs	18

I.8.3 Produits naturels d'origine marine comme inhibiteurs de corrosion des métaux en milieu corrosif	20
I.9 Techniques d'évaluation de la corrosion	21
I.9.1 Gravimétrie	22
I.9.2 Techniques électrochimiques	22
I.9.2.1 Evaluation du potentiel en fonction de temps	22
I.9.2.2 Courbes de polarisation	23
II Partie expérimentale	
II.I Matériels et méthodologie expérimentale	24
II.I.1 Récolte et traitement du matériel végétal	24
II.1.2 Préparation de l'extrait	25
II.1.3 Extraction de la fraction volatile à partir de l'extrait brut	26
II.1.3.1 Description du dispositif expérimental	26
II.1.4 Traitement de l'hydrolat (fraction volatile et eau)	27
II.1.5 Analyse de la fraction volatile par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	27
II.1.6 Détermination de l'activité antimicrobienne de la fraction volatile	28
II.1.6.1 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne	28
II.1.6.2 Milieux de culture	28
II.1.6.3 Souches utilisées	28
II.1.6.4 Préparation du milieu de culture	29
II.1.6.5 Ensemencement	30
II.1.6.6 Séchage	30
II.1.6.7 Préparation de la solution à tester	30
II.1.6.8 Déposition des disques	30
II.1.6.9 Incubation	31
II.1.6.10 Lecture des résultats	31
II.I.7 Détermination du pouvoir d'inhibition de la corrosion de fraction volatile	31
II.1.7.1 Préparation des surfaces	31
II.1.7.2 Polissage	31
II.1.7.3 Préparation des solutions	31
II.1.7.4 Méthode électrochimique	32
II.1.7.5 Principe de la méthode électrochimique	33

II.2 Résultat et discussion	
II.2.1 Rendement d'extrait brut	35
II.2.2 Rendement en fraction volatile	36
II.2.3 Propriétés organoleptiques de la fraction volatile	36
II.2.4 Analyse de la fraction volatile par CG/SM	36
II.2.5 Détermination de l'activité antibactérienne de la fraction volatile	44
II.2.6 Détermination de l'activité anticorrosion de l'aluminium de la fraction volatile	48
II.2.6.1 Etude l'effet inhibiteur de la fraction volatile et de l'extrait de <i>Dictyopteris membranacea</i> vis-à-vis la corrosion de l'aluminium	48
II.2.6.1.1 Gravimétrie	48
II.2.6.1.2 Etude potentiodynamique	48
III. Conclusion	53
IV. Références bibliographiques	54

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Notre pays est profondément marqué par la mer, sa face maritime qui s'étale sur 1200 Km, ce qui implique l'existence de milliers d'espèces marines (faune et flore) particulièrement les algues qui représentent une biomasse très importante.

Les algues sont parmi les premiers êtres vivants sur la terre, elles sont apparues il y a environ 5 milliards d'années, elles ne peuvent survivre et se développer que par la photosynthèse.

Il y a une multiplication d'espèces d'algues suivant les milieux, que ce soit en eau chaude, équatoriale, eau froide ou en océan polaire.

Les algues sont constituées en majorité par des organismes unicellulaires qualifiés de "microalgues" et en minorité par des individus multicellulaire "macroalgues" ; tous deux jouent un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre chimique et biologique des océans.

Les macroalgues sont classées selon des critères de pigments en trois classes : Algues brunes, Algues rouges et Algues vertes.

Les algues constituent aujourd'hui un enjeu majeur de développement économique. Elles représentent une source riche de structures nouvelles et de métabolites biologiquement actifs d'intérêts potentiels dans les domaines alimentaire, pharmaceutique, parfum et cosmétique et dans d'autres secteurs de l'industrie.

L'étude phytochimique de certaines classes d'algues a permis d'isoler un nombre important de métabolites, souvent de nature terpénique, dotés de propriétés antimicrobienne, antifongique, anticancéreux, qui peuvent dans un futur proche constituer des solutions à des maladies actuellement incurables.

Il ya lieu de souligner la présence dans la fraction volatile des algues d'une classe de produits volatiles à 11 atomes de carbones jouant un rôle très important dans la communication chimique.

Notre sujet s'intègre dans cette large thématique et porte sur l'étude d'une espèce appartenant à la classe des algues brunes ou phéophycées, algues presque exclusivement marine, caractérisées par des pigment brun-rouge comme la fucoxanthine, qui masque la chlorophylle a et c.

L'objectif du présent travail est l'étude phytochimique de l'algue brune *Dictyopteris membranacea* et d'évaluer son activité antimicrobienne et la détermination de l'activité inhibitrice de la corrosion de l'aluminium.

Ce travail comporte deux parties :

1. Une synthèse bibliographique comportant un aperçu général sur les algues marines, la composition chimique et leur activité biologique.

2. Une partie expérimentale consacrée à :

- Préparation de l'extrait brut,
- Préparation de la fraction volatile,
- Analyse de la fraction volatile par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse,
- Détermination de l'activité antimicrobienne de la fraction volatile,
- Tests d'inhibition de la corrosion de l'aluminium de la fraction volatile.

PARTIE I

Synthèse bibliographique

I.1 Généralité sur les algues

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé «thalle». Celui-ci contient une structure à sa base (rhizoïdes, crampons, disques...) permettant l'ancrage de l'algue sur un support: une roche (algues épilithes), une plante (algues épiphytes), un animal (algues épibiontes) ou parfois même le sable. Le thalle présente une grande diversité de formes allant de lames simples à des structures plus complexes semblables à des tubes, des tiges et des feuilles ou encore des boules remplies d'eau. La texture est également très variée: certaines algues sont gélifiées, voire de texture cartilagineuse ou spongieuse. Le nombre et le type de ramifications (insertion, organisation et hiérarchisation de ces ramifications par rapport à l'axe principal) sont des critères importants pour identifier les algues.

Enfin, certaines algues présentent un thalle très rigide, suite à l'accumulation de carbonate de calcium ou aragonite, dans les parois de leurs cellules. Certaines algues rouges sont même presque entièrement calcifiées et forment des croûtes aussi dures que les rochers leur servant de support [1].

Les cellules des algues possèdent les mêmes éléments de structure que celles des plantes supérieures. Elles ont une paroi cellulaire partiellement cellulosique, des petits noyaux et des plastes pigmentés ou chromatophores comportant de la chlorophylle souvent masquée par des pigments surnuméraires qui donnent aux thalles des couleurs [1].

Elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes.

D'autres au contraire survivent dans les eaux des sources thermales à des températures élevées (algues thermophiles). Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal [2].

1.1.1 Classification des algues

C'est le botaniste français Joseph Pitton de Tournefort (1656-1708)[3], qui a réuni les espèces en genres puis le naturaliste suédois Carl Von Linné (1707-1778), fondateur de la Systématique (ou Taxonomie), qui a classé les organismes en groupes de plus en plus larges : espèces, genres, familles, ordres, classes, embranchements (ou phylums) et règnes.

Les algues, selon Feldmann et Chadeffaud [4,5], sont classées en six embranchements différenciés par la nature des pigments, la nature et la situation des réserves glucidiques et la présence ou l'absence, le nombre et la disposition des flagelles :

- Pyrrophytophyta : Algues unicellulaires marines ou d'eau douce,
- Euglenophycophyta : Algues unicellulaires des eaux douces riches en matières organiques,
- Chrysophycophyta : La plupart sont unicellulaires. Eau douce, eau de mer,
- Chlorophycophyta : Algues vertes. Unicellulaires ou pluricellulaires. Marines, eaux douces, milieux terrestres,
- Phæophycophyta : Algues brunes. Toujours pluricellulaires, presque toutes marines,
- Rhodophycophyta : Algues rouges. Surtout pluricellulaires et en grande majorité marines.

1.1.2 Répartition des algues

Les algues sont liées à l'eau et peuvent dès lors s'installer dans tous les types d'habitat suffisamment humides et éclairés. On peut les retrouver en eau douce, en mer, sur sol humide et même sur la neige. Les algues étant photosynthétiques, elles sont dépendantes de la présence de la lumière. Egalement, Les algues nécessitent d'être fixées à un substrat, par conséquent, la texture, le degré de cohésion et la nature chimique du substrat ont une importance sur la répartition spatiale des espèces [6].

1.1.3 Etude taxonomique de l'espèce *Dictyopteris membranacea*

i. Systématique : Actuellement, cette espèce porte le nom de *Dictyopteris membranacea* (Stackhouse) Batters [7,8]. D'autres appellations ont été aussi utilisées dans des travaux antérieurs, nous avons noté :

Fucus membranaceus (Stackhouse) [9,10],

Dictyopteris polypodioides Lamouroux [9,10],

Haliserispolypodioides (Desfontaines) Agardh [11].

L'espèce *Dictyopteris membranacea* appartient à :

- Embranchement : *Phæophycophyta* (*Chromophytes*),
- Classe : *Phéophycées* ou *Fucophycées*,
- Ordre : *Dictyotales*.
- Famille : *Dictyotacées*.

- Genre : *Dictyopteris*.
- Espèce : *membranacea* Batters.

ii Description [8,12] : Algue brune atteignant 10 cm de hauteur (figure 1) dont le thalle brun jaunâtre aplati, mince se dédouble régulièrement (ramifié dichotomiquement) en lanières de 2-8 mm de large, à nervure centrale bien visible de la base au sommet.

iii Biologie [8,12] : Algue vivace, subsiste à la mauvaise saison par sa partie basale réduite à la nervure. Le cycle de développement voit alterner 2 générations (2 types de thalles semblables morphologiquement : cycle digénétique isomorphe).

iv Écologie [8,12] : Espèce cosmopolite qui se rencontre sur les rochers peu éclairés (espèce sciaphile) de l'étage infralittoral et de l'étage circalittoral.



Figure 1 : *Dictyopteris membranacea* (Stackhouse) <http://www.algaebase.org>

1.2 Composition chimique des algues brunes

1.2.1 Généralités sur les terpènes

Les terpènes appartiennent à la vaste famille des isoprénoïdes. Ils possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et des activités biologiques très diverses. Plusieurs d'entre eux sont exploités à l'échelle industrielle. Le mot « terpène » tire son origine du mot de huile de térébenthine, cette huile a été découverte en 1818 comme étant un mélange d'hydrocarbures avec un ratio carbone-hydrogène de (5:8) [13].

En 1959, il a été proposé une nomenclature pour les dérivés isopréniques en fonction du nombre d'unités d'isoprène qui les constitue [14] : monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes et terpénoïdes (C_{30}) et caroténoïdes (C_{40}).

Biogénétiquement, les terpènes ont pour précurseur l'acide mévalonique, obtenu par activation enzymatique d'une molécule d'acide acétique.

La phosphorylation et la décarboxylation qui suivent aboutissent à une unité isoprénique de base : le pyrophosphate de 3-isoprényle (PPI-3) [14].

Cette unité est isomérisée en pyrophosphate de 2-isoprényle (PPI-2) qui joue le rôle d'agent alkylant envers d'autres groupes PPI-3. Selon le nombre d'unités isopréniques fixées, on obtient :

- Par le pyrophosphate de géranyl (PPG), les monoterpènes.
- Par le pyrophosphate de farnésyle (PPF), les sesquiterpènes.
- Par le pyrophosphate de géranylgeranyle (PPGG), les diterpènes.

La classe des terpénoïdes, largement répandue dans le règne végétal (supérieur et inférieur), est aussi connue chez les animaux et les micro-organismes. Au sein des différents organismes qui les produisent, les terpénoïdes jouent un rôle fonctionnel de défense et de communication. Dans la vie de l'homme, les produits terpéniques sont largement utilisés dans la parfumerie, les savons et cosmétiques et en pharmacologie.

1.2.2 Terpènes des algues brunes

Au même titre que les monoterpènes et les sesquiterpènes, les composés diterpéniques constituent une grande classe de composés isopréniques chez les macroalgues, les phéophycées en renferment le pourcentage le plus élevé (figure 2). Les diterpènes sont bien connus dans le règne végétal (supérieur et inférieur) comme en témoigne la richesse

bibliographique décrite dans ce domaine [15-20], on les rencontre aussi chez certains insectes et d'autres organismes marins tels que les éponges [21-24]. L'activité biologique fort intéressante décelée chez de nombreux diterpènes naturels [25-26] a suscité un engouement particulier chez les chimistes organiciens, qui, profitant de l'essor que connaît la synthèse organique, consacrent beaucoup de travaux à la synthèse des structures diterpéniques isolées à partir des produits naturels [27-30].

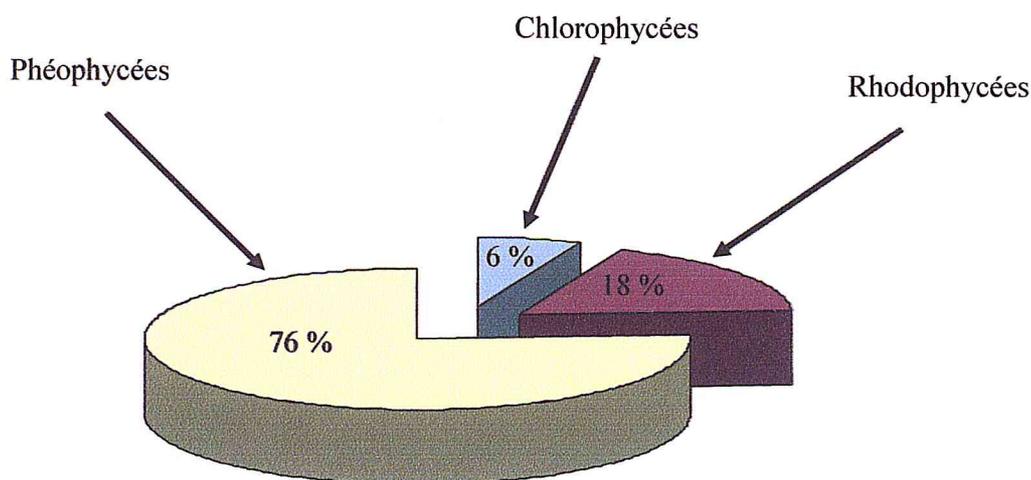


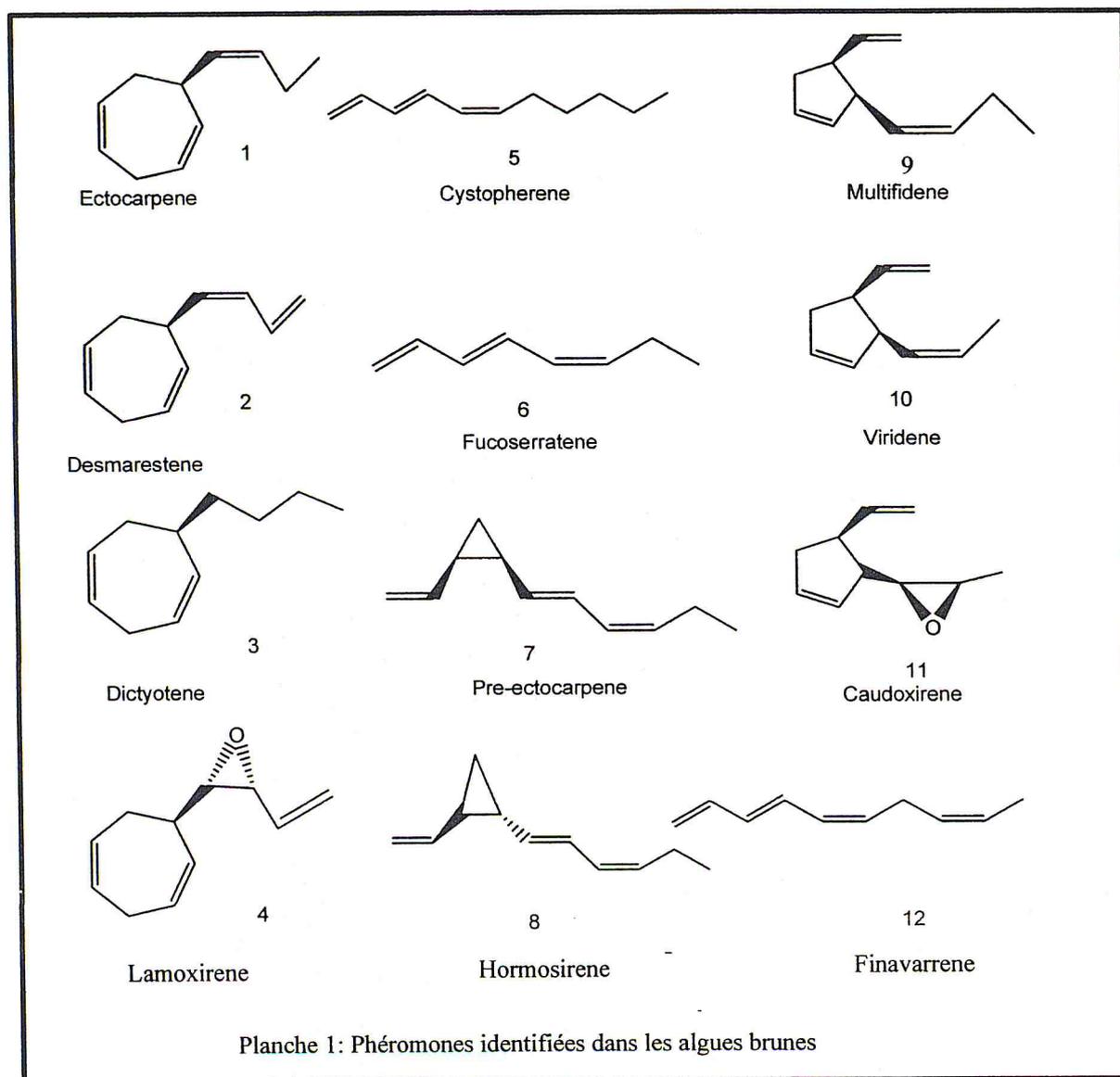
Figure 2 : Répartition des diterpènes dans les macroalgues

1.3 Composés volatils des algues brunes

Les algues brunes produisent des dérivés volatils dont la nature chimique et la fonction biologique sont différentes de celles des algues rouges [31]. Ce sont des hydrocarbures à 11 atomes de carbone sans halogènes qu'on peut classer selon leur structure chimique en quatre groupes [32] : (a) dérivés du cyclopropane, (b) dérivés du cyclopentène, (c) dérivés du cycloheptadiène et (d) les oléfines acycliques. Le seul hydrocarbure volatil à huit atomes de carbone identifié dans les algues brunes est le fucoserratene. Ces produits qui sont connus chez toutes les espèces des phéophycées ne sont pas spécifiques d'un ordre ou d'une famille. Ils interviennent dans le processus de reproduction de l'algue, ce sont des phéromones sexuelles.

Actuellement 12 phéromones (planche 1) et plus de 50 stéréoisomères sont connus dans plus de 100 espèces d'algues brunes [33-35]. La biogénèse des hydrocarbures en C-11 est également connue chez les diatomées [36,37] et les microalgues [38]. Ces mêmes

hydrocarbures en C₁₁ sont aussi métabolisés chez les végétaux supérieurs, toutefois, la biosynthèse suit une voie différente de celle des algues [39].



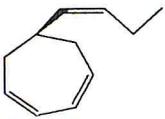
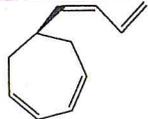
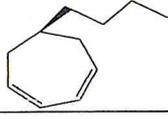
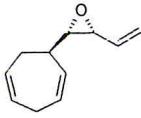
1.3.1 Phéromones des algues brunes

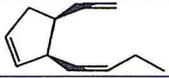
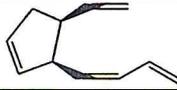
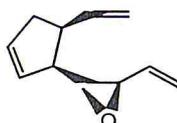
Les phéromones sont bien connues comme étant des molécules organiques ayant plusieurs rôles dans la communication entre différents organismes d'une même espèce. Un de ces rôles est la communication sexuelle.

Les gamètes femelles sécrètent un mélange de produits et non pas une seule phéromone. Toutefois, il a été vérifié que l'activité biologique est associée à un seul constituant qui peut ne pas être le produit majeur. Ces sous-produits jouent quelquefois un rôle de modulateur de réponse des gamètes et en général, ils n'ont pas une fonction biologique

déterminée [32]. Ils appartiennent à la même classe chimique que le produit biologiquement actif avec des instaurations variables. L'utilisation des différents stéréoisomères des phéromones augmente la diversité des signaux moléculaires. Le tableau 1 regroupe les phéromones isolées, les espèces d'algues dans lesquelles elles ont été identifiées ainsi que leur activité d'attraction (A) ou d'émission (E).

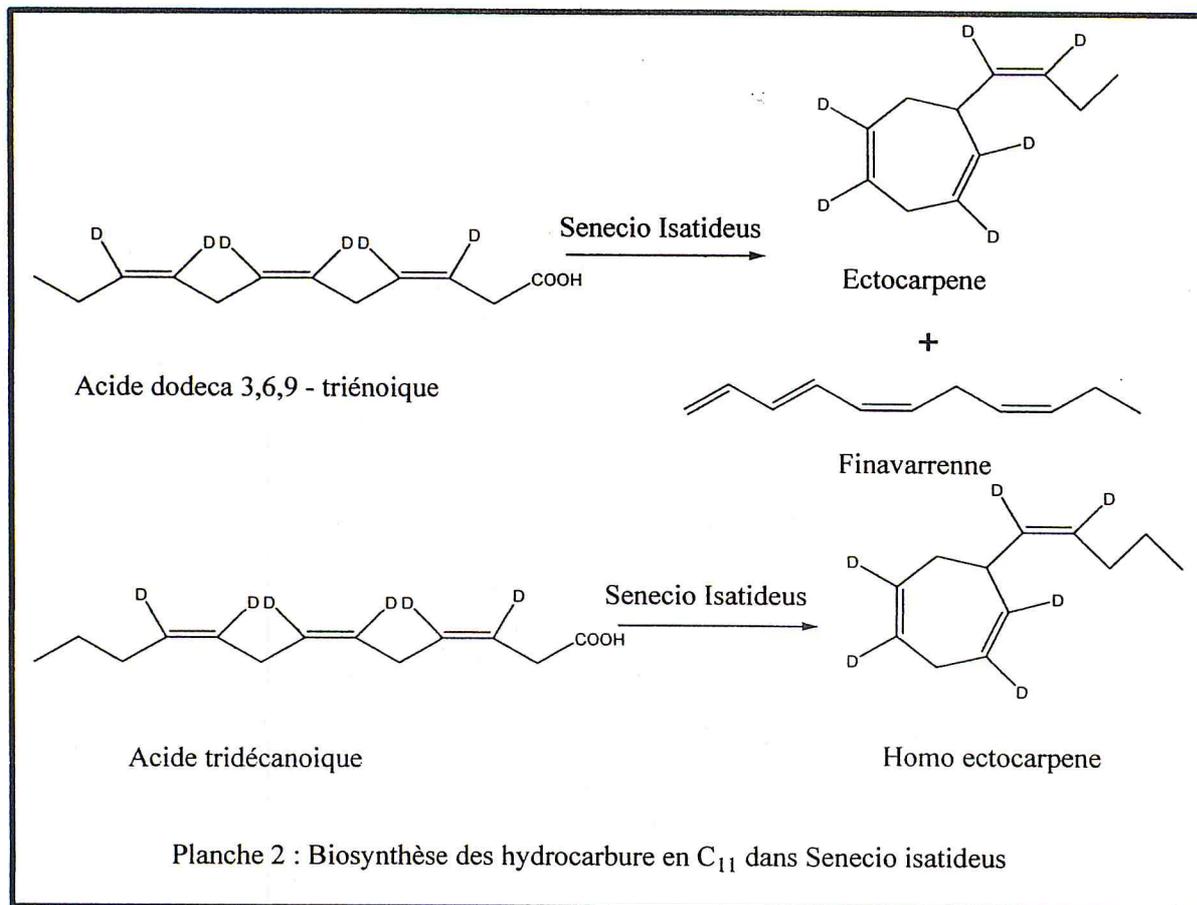
Tableau 1: Phéromones isolés à partir des algues brunes

N°	Nom de la phéromone	Structure chimique	Attraction/ Emission A/E	Espèces d'algues
1	Ectocarpene		A	<i>Scytosiphon</i> sp., <i>Ectocarpus fasciculatus</i> , <i>Adenocystis tricularis</i> , <i>Sphacelaria rigidula</i>
2	Desmarestene		A/E A	<i>Desmarestia acculeata</i> (6R), <i>D. viridis</i> , <i>Cladostephus spongiosus</i> (6R), <i>D. firma</i> (6R)
3	Dictyotene		A A	<i>Dictyota dichotoma</i> , <i>Dictyota diemensis</i> , <i>Dictyota prolifera</i> .
4	Lamoxirene		A/E	<i>Laminaria angustata</i> , <i>L. sinclari</i> , <i>L. japonica</i> , <i>L. digitata</i> , <i>L. hyperborea</i> , <i>L. sacharina</i> , <i>Pleurophydus</i> , <i>Alaria classiforia</i> , <i>A. esculenta</i> , <i>A. marginata</i> , <i>Ecklonia radiata</i> , <i>Eisenia arborea</i> , <i>Pterygophora californica</i> , <i>undariapinnatifida</i> , <i>Dictyoneuropsis reticulata</i> , <i>Lessoniavariegata</i> , <i>Lessoniopsis littoralis</i> , <i>Macrocystis integrifolia</i> , <i>Macrocystis pyrifer</i> , <i>Nereocystis luetkeana</i> , <i>Pelagophycus porra</i> , <i>Agarum cribrosum</i> , <i>Cymmathere triplicata</i> , <i>Hedophyllum sessile</i> , <i>Kjellmaniella gyrata</i> , <i>Cystophorasiliquosa</i> .
5	Cystophorene		A	<i>Cystophorasiliquosa</i> .
6	Fucoserratene		A	<i>Fucus serratus</i> , <i>F. spiralis</i> , <i>F. vesiculosus</i> .
7	Pre-ectocarpene			<i>Ectocarpus siliculosus</i> .

8	Hormosirene		A	<i>Hormosira banksii</i> , <i>Xiphophora chondrophylla</i> , <i>X. gladiata</i> , <i>Durvillaea antarctica</i> , <i>D. potatorum</i> , <i>D. willana</i> , <i>Colpomenia peregrina</i> , <i>C. bullosa</i> , <i>Ascoseira mirabilis</i> , <i>Myelophycus simplex</i> , <i>Scytosiphon lomentaria</i> .
9	Multifidene		A/E	<i>Cutleria multifida</i> , <i>Zonaria angustata</i> , <i>Chorda tomentosa</i> .
10	Viridene		A/E	<i>Syringoderma phinneyi</i> , <i>Syringoderma</i> . sp
11	Caudoxirene		E	<i>Perithalia caudata</i> , <i>Dictyosiphon foeniculaceus</i> .

1.3.2 Biosynthèse des hydrocarbures en C₁₁

L'étude de la biosynthèse des hydrocarbures en C₁₁ intervenant dans le processus de reproduction des algues est ardue du fait des faibles quantités de phéromones libérées, c'est la raison qui a poussé les chercheurs à trouver d'autres sources de ces phéromones. Des travaux effectués sur les produits volatils des plantes terrestres ont montré que certaines huiles essentielles contiennent les hydrocarbures en C₁₁, c'est le cas de l'ectocarpène (1) et du pre-ectocarpène (7) qui ont été identifiés dans l'huile essentielle d'ananas [40]. Dans ce cadre, la plante terrestre *senecio isatideus*, appartenant à la classe des *Asteraceae* et dont le métabolite majeur est l'ectocarpène [41], a été la première espèce à être utilisée dans l'étude de la biosynthèse des phéromones d'algues.

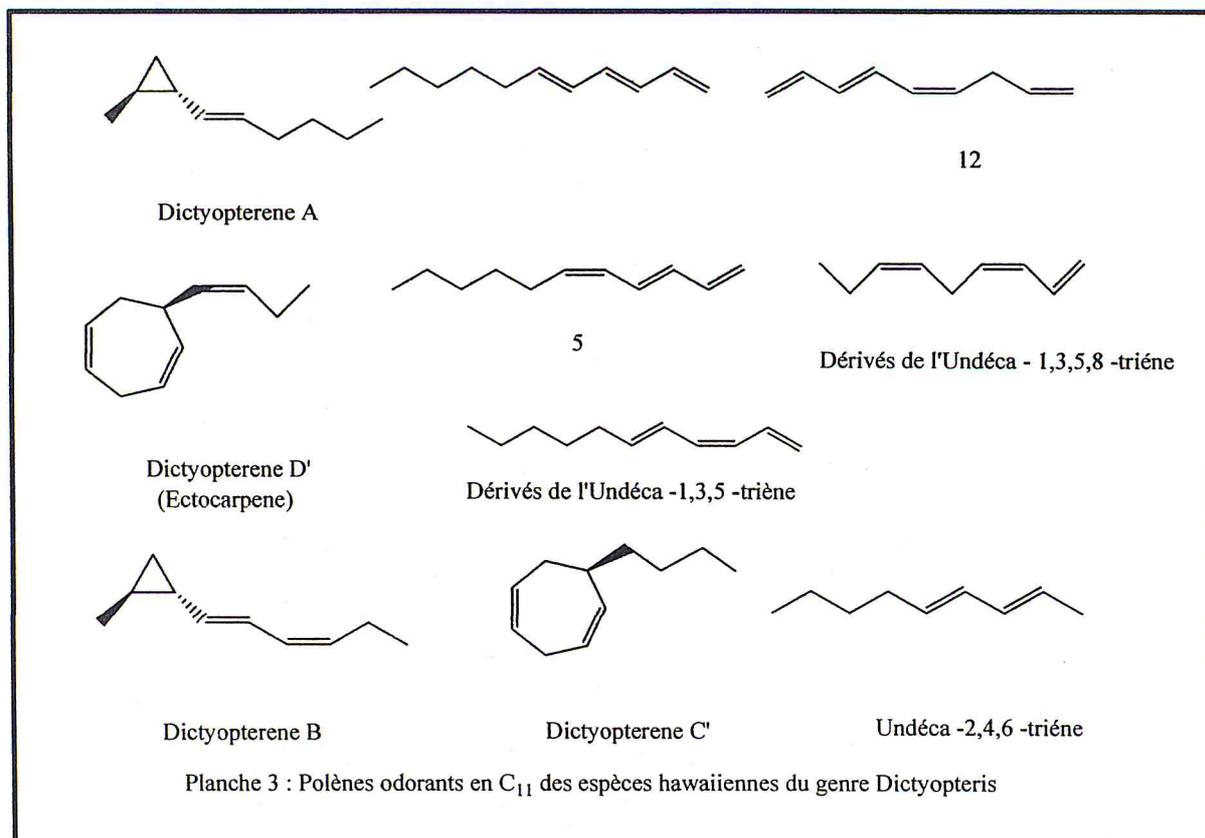


1.4 Composition chimique des espèces du genre *Dictyopteris*

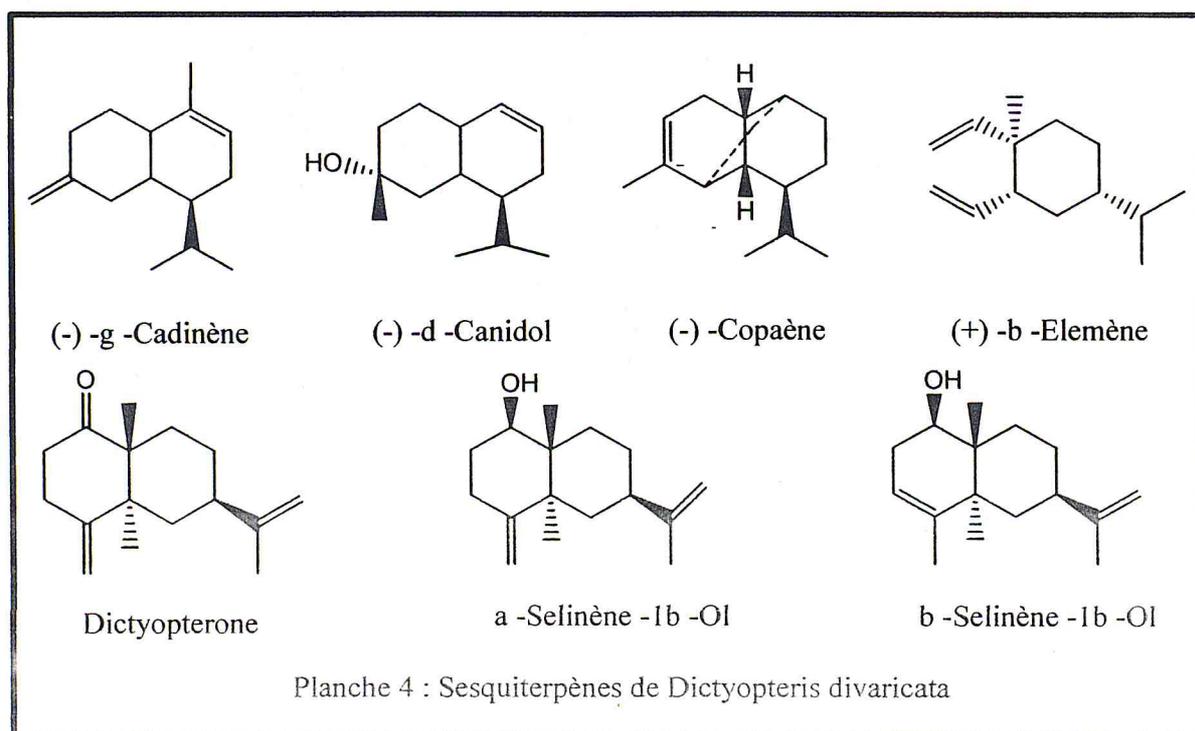
C'est vers les années 1960 qu'un Japonais (Katayama) a étudié les constituants volatils de certaines algues marines. Etant donné les faibles rendements obtenus par la technique de distillation à la vapeur, ces recherches ont été supplantées rapidement par les techniques d'extractions par solvants organiques.

C'est seulement à la fin des années 1970 que Moore et d'autres chercheurs se sont à nouveau penchés sur la question des produits volatils d'origine marine.

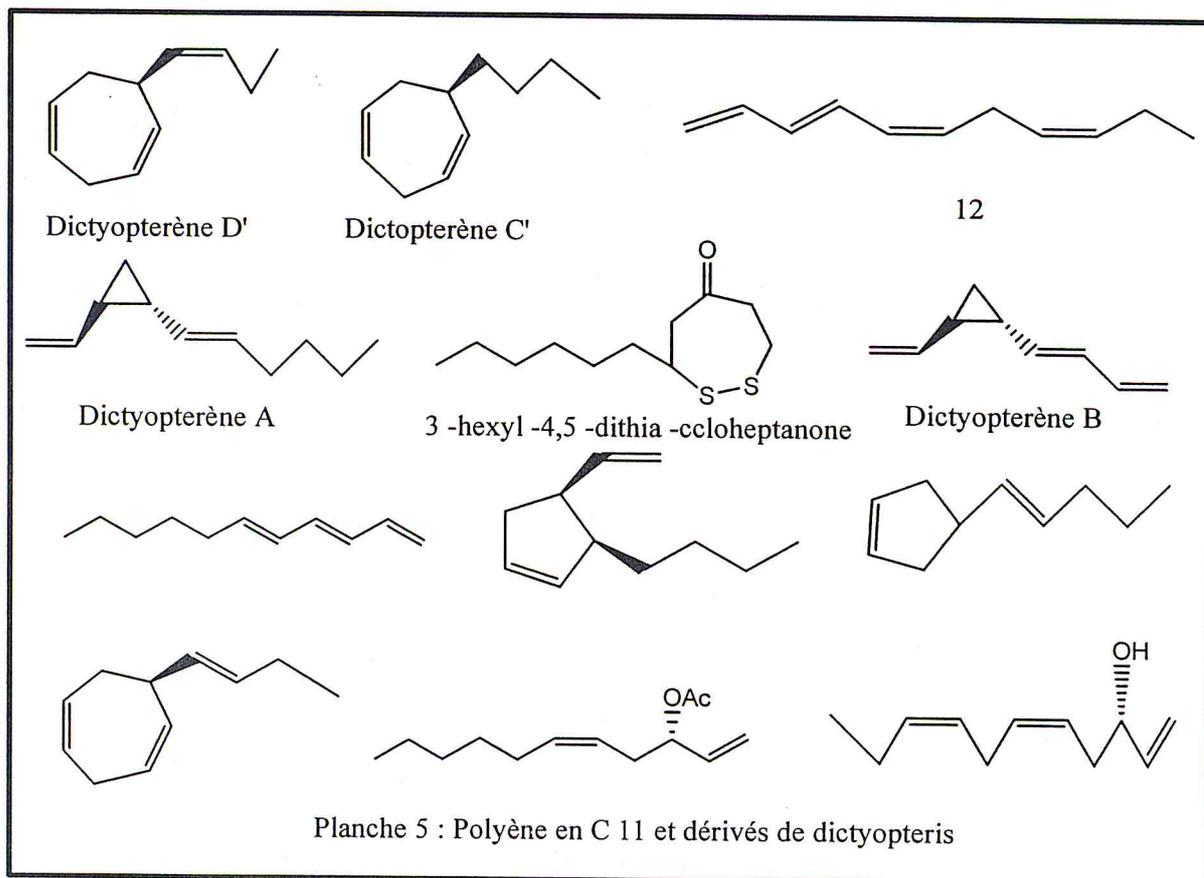
Selon Moore (1977), la seule substance volatile découverte avant 1966 est le sulfure de diméthyle. A partir d'une distillation à la vapeur de l'algue brune *Dictyopteris plagiogramma* d'Hawaii, Moore obtient des composés non-isoprénoïdes à onze carbones. Il s'agit des dictyopterènes A, B, C' (dictyotene), D' (ectocarpene) (planche 4), ainsi qu'en plus faible quantité des isomères de l'undéca-1, 3,5-triéne et de l'undéca-1, 3, 5,8-tétraène. Soulignons que les undécatriènes sont très appréciés en parfumerie pour leur odeur 'verte' caractéristique. Ce sont les constituants majeurs de l'essence de *galbanum*, qui par ses propriétés olfactives est à l'origine des parfums actuels à note verte [41].



En contraste avec les travaux plus anciens, mentionnés par I. Flament (1984), qui présentent de *Dictyopteris divaricata* du Japon, une mixture intéressante des sesquiterpènes du type cadinène.

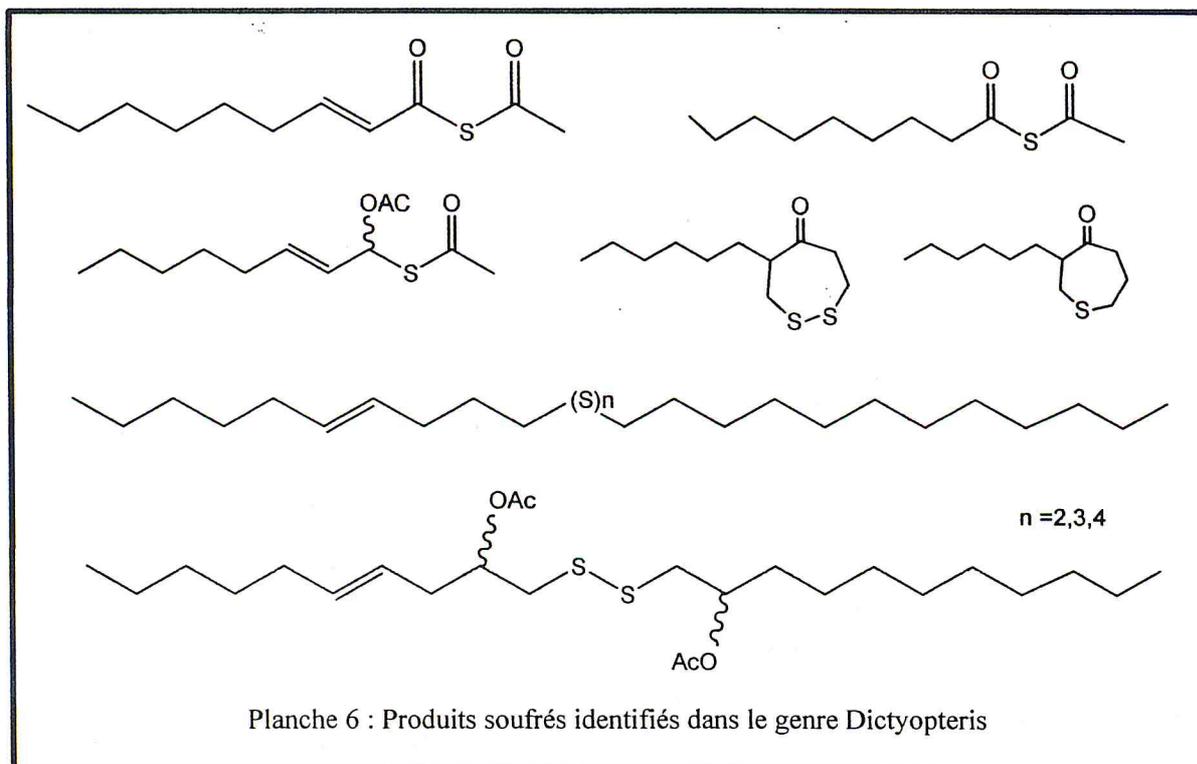


Une étude plus récente [42] de l'espèce *Dictyopteris membranacea* récoltée sur les côtes méditerranéennes Françaises (Ville-Franche sur mer) a montré que l'extrait obtenu par extraction au mélange de solvants méthanol-chloroforme (1/1, v/v) contient, outre les polyènes et acides gras déjà décrits, une grande quantité d'un produit soufré, la 3-hexyl-4,5-dithia-cycloheptanone (planche 5).



1.5 Hydrocarbures soufrés à partir du genre *Dictyopteris*

Les espèces du genre *Dictyopteris* renferment une grande quantité d'hydrocarbures soufrés en C₁₁ [43,44], l'espèce *Dictyopteris membranacea* de méditerranée renferme jusqu'à 0,1 % de produits soufrés / masse d'algue sèche. La biosynthèse des hydrocarbures soufrés utilise, comme dans le cas des hydrocarbures en C₁₁, l'acide arachidonique comme précurseur. Nous présentons dans la planche (6) les principaux produits soufrés identifiés dans le genre *Dictyopteris*.



1.6 Activités biologiques des huiles essentielles et fractions volatiles des algues brunes

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source infinie de molécules actives à structure chimique originale [45,46]. Ces composés sont synthétisés par des voies métaboliques différentes de celles observées en milieu terrestre. Parmi les organismes marins, les algues, qui sont le plus souvent fixées sur un substrat, élaborent des mécanismes de défense chimique pour empêcher leur colonisation par d'autres espèces, y compris les microorganismes [47,48]. Egalement, de nombreux travaux [49] ont mis en évidence l'activité biologique de métabolites extraits obtenus à partir de macroalgues. En effet, l'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau, leur utilisation ancestrale est répertoriée dans de nombreux travaux [50]. Si les principes actifs extraits d'algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importants [50].

Des milliers de molécules ont ainsi été identifiées. Ce sont des polysaccharides, des lipides ou encore de petits métabolites de nature phénolique [51] et terpénique [52,53]. Les activités décrites sont très diverses : antimicrobienne [54,55] anti-malariale [56], antioxydant [57-59], anti-inflammatoire [60], cytotoxique [61], antivirale [62] ainsi que d'autres activités.

Face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité.

Cette étude tente de trouver une activité antibactérienne et antifongique chez l'algue brune *Dictyopteris membranacea*, récoltée sur les côtes algérienne.

1.6.1 Activité biologique des extraits et des fractions volatiles de *Dictyopteris membranacea*

Les algues marines synthétisent une grande variété de métabolites secondaires chimiquement actifs, qui sont utilisés pour la défense contre les autres organismes prédateurs ou colonisateurs. Ces métabolites actifs produits par plusieurs espèces de macro et microalgues marines, montrent des propriétés antibactérienne et anti-inflammatoire, sont souvent efficaces dans le domaine thérapeutique. Plusieurs travaux ont mentionné qu'il y a une grande biodiversité biologique chez les organismes d'origines marines.

Des travaux antérieurs sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle obtenue à partir de *Dictyopteris membranacea*, récoltée en Turquie, évaluée vis-à-vis d'un certain nombre de souches, à une concentration de 0.015 µg/disk, ont noté l'absence d'activité chez toutes les souches à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui a montré une faible activité inhibitrice [63]. En plus, plusieurs études menées par Deslandes et Rao [64] ont montré une activité importante d'extrait chloroformique d'algues brunes sur plusieurs bactéries.

D'autres travaux [65] ont rapporté les activités antifongiques de certaines algues marines (*Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*, *Dictyopteris membranacea*) contre les levures et les champignons.

La sensibilité des microorganismes cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition [66].

Tableau 2 : Pouvoir antibactérien en fonction du diamètre de la zone d'inhibition

Activité antibactérienne	Diamètres des zones d'inhibition
Très fortement inhibitrice	$\geq 30\text{mm}$
Fortement inhibitrice	$21\text{mm} < \text{diamètre de la zone} < 30\text{mm}$
Modérément inhibitrice	$16\text{mm} < \text{diamètre de la zone} < 21\text{mm}$
Légèrement inhibitrice	$11\text{mm} < \text{diamètre de la zone} < 16\text{mm}$
Non inhibitrice	$\text{diamètre de la zone} < 11\text{mm}$

La variation du pouvoir antimicrobien peut être influencée par plusieurs facteurs telle que l'espèce algale, la souche bactérienne, le conditionnement de l'algue, la saison de récolte [67]. En outre, il serait intéressant de pouvoir mener d'une part un criblage antibactérien mensuel afin de déterminer la période de l'année propice de la récolte de l'algue et d'autre part réaliser le fractionnement, la purification et la caractérisation des composés actifs dans l'optique d'une valorisation de ces composés naturels.

I.7 Détermination du pouvoir inhibiteur de la corrosion de la fraction volatile

I.7.1 Introduction

Actuellement, les extraits des substances naturelles trouvent d'autres domaines d'application notamment dans la lutte contre la corrosion. En effet, les résultats les plus intéressants dans le domaine de protection des matériaux ont été obtenus avec des huiles essentielles. Également ces inhibiteurs ont été reconnus comme des substances non toxiques et qui ne présentent pas de risque de pollution de l'environnement à comparer avec les inhibiteurs organiques.

Le phénomène de corrosion est un problème d'interface entre un métal et un milieu agressif liquide ou gazeux entraînant une destruction des matériaux métalliques. Ce phénomène appris de nos jours une importance considérable, étant donné l'utilisation de plus en plus grande des métaux et alliages dans la vie moderne.

L'utilisation des inhibiteurs est l'une des méthodes les plus pratiques pour la protection contre la corrosion en particulier dans des solutions acides pour empêcher la dissolution métallique indésirable et la consommation d'acide surtout lors du traitement des métaux par immersion dans des bains acides.

Différents composés synthétiques organiques et inorganiques ont été utilisés comme inhibiteurs pour protéger les métaux de la corrosion. Cependant, ils sont coûteux et présentent des effets dangereux. Les recherches actuelles s'orientent de plus en plus vers l'utilisation d'inhibiteurs dits "verts".

La nature non-toxique et biodégradable des produits naturels a conduit à leur utilisation en tant qu'inhibiteurs écologiques.

Plusieurs méthodes sont disponibles pour empêcher ou retarder la corrosion des matériaux métalliques, l'utilisation des inhibiteurs est l'une des meilleures techniques qui assure leur protection lorsqu'ils sont en contact avec des milieux très agressifs tel que le milieu acide chlorhydrique.

I.8 Les inhibiteurs de corrosion

Un inhibiteur de corrosion est un composé chimique ajouté au milieu corrosif, susceptible, par action physique ou chimique à l'interface, d'inhiber, c.à.d. de ralentir ou de stopper l'une des deux réactions anodiques ou cathodiques mises en œuvre dans le processus de corrosion ou bien encore les deux. Cet additif doit être utilisé en faible quantité afin de ne pas modifier les propriétés physico-chimiques du milieu. L'inhibiteur peut contribuer à former des films superficiels qui s'opposeront au transfert des espèces vers la surface du métal ou à partir de cette surface, l'inhibiteur pourra également modifier le mécanisme réactionnel conduisant par exemple à la dissolution du métal. On distingue, selon une classification acquise, des inhibiteurs anodiques, des inhibiteurs cathodiques, des inhibiteurs mixtes et des inhibiteurs agissant par adsorption [68].

I.8.1 Propriétés essentielles d'un inhibiteur de corrosion

En dehors de tout mécanisme d'action, un inhibiteur de corrosion doit vérifier un certain nombre de propriétés fondamentales [69].

- Abaisser la vitesse de corrosion du métal tout en conservant les caractéristiques physicochimiques de ce dernier.
- Être stable en présence d'autres constituants du milieu, en particulier vis-à-vis des oxydants, tels certains biocides.
- Ne pas modifier la stabilité des espèces contenues dans le milieu, par exemple en provoquant l'apparition d'émulsions, voire de la mousse.
- Être stable à la température d'utilisation.
- Être efficace à faible concentration

I.8.2 Classes d'inhibiteurs de corrosion

Il existe plusieurs façons de classer les inhibiteurs (figure 3), des classements simples peuvent être proposés : [69]

- Par réaction partielle.
- Par domaine d'application
- Par mécanismes réactionnels
- Par formulation des produits

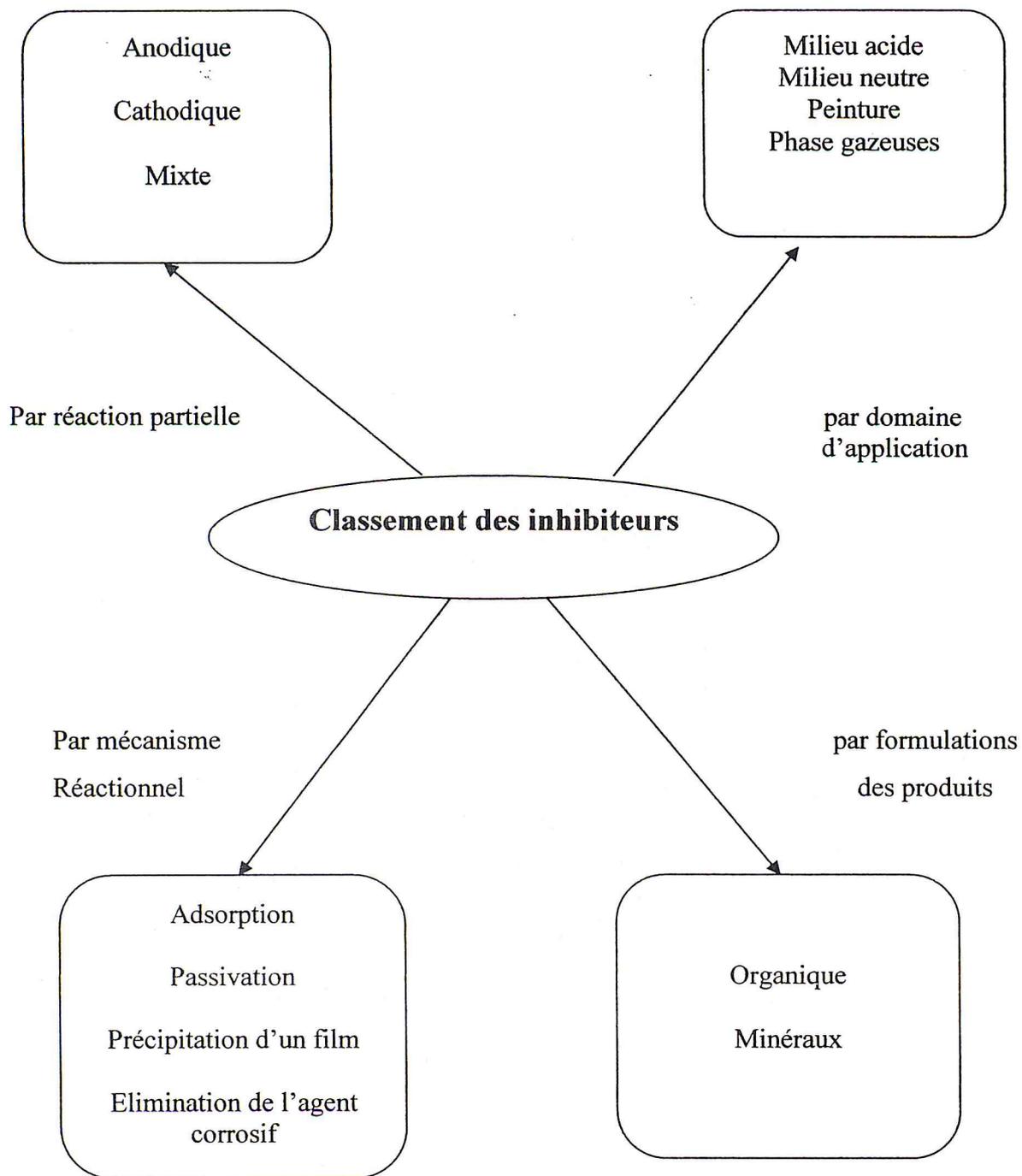


Figure 3 : Classement des inhibiteurs de corrosion

I.8.3 Produits naturels d'origine marine comme inhibiteurs de corrosion des métaux en milieu corrosif

Les produits naturels tels que les extraits des algues marines semblent être une alternative écologique idéale pour remplacer les traditionnels inhibiteurs de corrosion.

Au cours des dernières années, l'attention s'est de plus en plus focalisée sur les propriétés anticorrosives des produits naturels d'origine marine et l'utilisation d'inhibiteurs verts a nettement augmenté. Une lecture attentive de la littérature révèle clairement que l'ère des inhibiteurs verts a déjà commencé. Cependant, les références bibliographiques suivantes ne présentent que quelques contributions des plus récentes ou les propriétés inhibitrices de corrosion en milieux acides des différents extraits des algues ont été étudiées, selon S.M. Galai et al. (2015) [70], l'extrait méthanoïque de *Swartzii sargasses* (algues brunes) a un effet d'inhibition sur la corrosion de l'acier en milieu aqueux contenant 60ppm des ions Cl⁻. WB Wan Nik et al. (2012) [71], ont examiné l'utilisation des extraits marins des microalgues pour retarder la corrosion de l'aluminium dans l'eau de mer, en utilisant des extraits éthanoïques et de dichlorométhane, ces extraits ont montré une activité anticorrosive significative pour l'aluminium à une faible concentration de 5ppm.

L'extrait de l'algue verte *Caulerpa prolifera* a été étudié par M. Ramdani et al (2015) [72] dans un milieu HCl 1M pour déterminer son effet inhibiteur sur la corrosion de l'acier. Les résultats ont révélé un effet inhibiteur élevé de *C. prolifera*. Dans le même contexte, l'extrait de l'algue verte spirogyra a été utilisé comme un inhibiteur efficace de corrosion de l'acier (2016) [73], l'étude a été réalisée en solution de HCl 0,5 M, l'efficacité de l'inhibition maximale a été jugée 93.03% à une concentration de 2 g/ L.

D'autres travaux [74], ont étudié l'effet de l'extrait d'algue marine *Sargassum wightii* sur l'inhibition de la corrosion du cuivre dans l'acide phosphorique, les résultats montrent que l'efficacité de l'inhibition s'accroît avec l'augmentation de la concentration de l'extrait et diminue avec l'augmentation de la température.

I.9 Techniques d'évaluation de la corrosion

Le transfert de charge qui se déroule à une interface entre une électrode et un électrolyte intervient à la suite d'une succession de phénomènes élémentaires plus ou moins fortement

Couplés :

- transport des espèces réactives au sein de l'électrolyte est souvent associé à des réactions chimiques dans ce dernier
- adsorption des espèces réactives sur l'électrode

- réactions chimiques et électrochimiques interfaciales se déroulant souvent en plusieurs étapes mono électroniques.

Le but de l'électrochimiste est donc d'analyser un mécanisme interfacial par une identification chimique et une caractérisation cinétique des intermédiaires réactionnels, soit d'estimer une quantité caractéristique d'un processus (exemple : Vitesse de corrosion ou de dépôt) à partir de la mesure d'une grandeur bien définie c'est la méthode gravimétrique. Aussi pour démêler les couplages entre le transport de matière et les réactions interfaciales ou pour effectuer un test, on doit souvent utiliser une technique capable d'extraire des informations durant le déroulement du processus électrochimique.

Le choix d'une technique dépend du but que l'on poursuit, soit établir un mécanisme réactionnel, c'est-à-dire tester un modèle, soit déterminer les paramètres cinétiques d'un mécanisme connu ou admet.

I.9.1 Gravimétrie

Cette méthode présente l'avantage d'être une mise en œuvre simple, de ne pas nécessiter un appareillage important, mais ne permet pas l'approche des mécanismes mis en jeu lors de la corrosion. Son principe repose sur la mesure de la perte de poids ΔP subit par un échantillon de surface S , pendant le temps t d'immersion dans une solution corrosive maintenue à température constante.

I.9.2 Techniques électrochimiques

I.9.2.1 Evaluation du potentiel en fonction de temps ($e=f(t)$)

Cette tension exprime la différence de potentiel entre la solution et le métal. Le potentiel est mesuré par rapport à une électrode de référence. Il est défini par rapport à l'égalité des vitesses des réactions élémentaires d'oxydation et de réduction qui se produisent à la surface du matériau lorsqu'il est émergé dans la solution.

La détermination de cette tension est indispensable avant chaque mesure électrochimique, son évaluation dans le temps fournit une indication sur les aptitudes de l'échantillon à la réactivité ou à la passivité et traduit la cinétique d'évaluation du matériau vers un état stationnaire, tout dépend des conditions expérimentales.

La mesure de potentiel de corrosion indique le type d'inhibiteur (anodique ou cathodique) suivant le sens de déviation du potentiel mesuré en absence d'inhibiteur. Si l'inhibiteur est un caractère mixte, aucune indication n'est donnée par la faible variation du potentiel.

I.9.2.2 Courbes de polarisation

Pour déterminer une courbe de polarisation potentiostatique, on applique, à l'aide d'un potentiostat, différents potentiels entre l'électrode de travail et une électrode de référence. On mesure le courant stationnaire qui s'établit après un certain temps dans le circuit électrique entre cette électrode de travail et une contre-électrode.

Cette méthode permet de déterminer d'une façon précise les paramètres électrochimiques d'un métal au contact d'un électrolyte à savoir : la vitesse instantanée de corrosion (I_{corr}), le potentiel de corrosion (E_{corr}), les pentes de Tafel, la résistance de polarisation (R_p), les courants limites de diffusion. Elle donne des mesures rapides et sa mise en œuvre est relativement simple [68].

PARTIE II

Étude expérimentale

II. Partie expérimentale

Le travail expérimental porte sur l'étude chimique, la détermination de l'activité antimicrobienne et les tests d'inhibition de la corrosion de l'aluminium de la fraction volatile de l'algue brune *Dictyopteris membranacea*.

Cette partie est scindée en cinq étapes :

- Préparation de l'extrait brut,
- Préparation de la fraction volatile,
- Analyse de la fraction volatile par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse,
- Détermination de l'activité antibactérienne de la fraction volatile,
- Tests d'inhibition de la corrosion de l'aluminium par la fraction volatile.

II.I Matériels et méthodologie expérimentale

II.I.I Récolte et traitement du matériel végétal

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre travail est l'algue brune *Dictyopteris membranacea* (figure 4), elle a été récoltée en juin 2012 au niveau du complexe la corne d'or (36° 37' 32, 91 N, 2° 24' 20.61 E) de la wilaya de Tipaza.



Figure 4 : Photo personnelle de l'algue brune *Dictyopteris membranacea*

L'algue a été triée manuellement pour éliminer les épiphytes et autres organismes susceptibles de contaminer la nature chimique des extraits, ensuite elle est séchée à l'ombre, dans un lieu sec et aéré.

II.1.2 Préparation de l'extrait brut

L'extrait brut est préparé par macération dans l'éther diéthylique dans un système statique à la température ambiante pendant deux semaines. L'algue est extraite deux fois afin de l'épuiser au maximum, les miscellas (solvant+extrait) sont regroupés. L'extraction est suivie d'une filtration et de l'évaporation de solvant à la température d'ébullition normale (40°C). L'extrait obtenu est pesé, afin d'estimer le rendement, ensuite stocké à l'obscurité à 4°C pour des analyses ultérieures. Le protocole général d'extraction utilisé est présenté sur la figure 5.

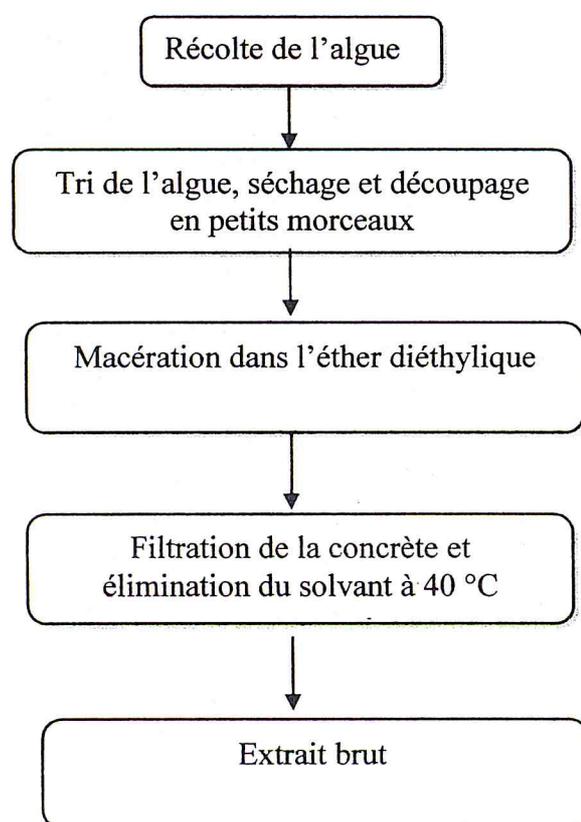


Figure 5 : Préparation de l'extrait à partir de la matière végétale

II.I.3 Extraction de la fraction volatile à partir de l'extrait brut

II.I.3.1 Description du dispositif expérimental

L'extraction consiste à faire subir à une masse d'extrait un entrainement à la vapeur d'eau dans un montage de Dean-Starck modifié (figure 6).

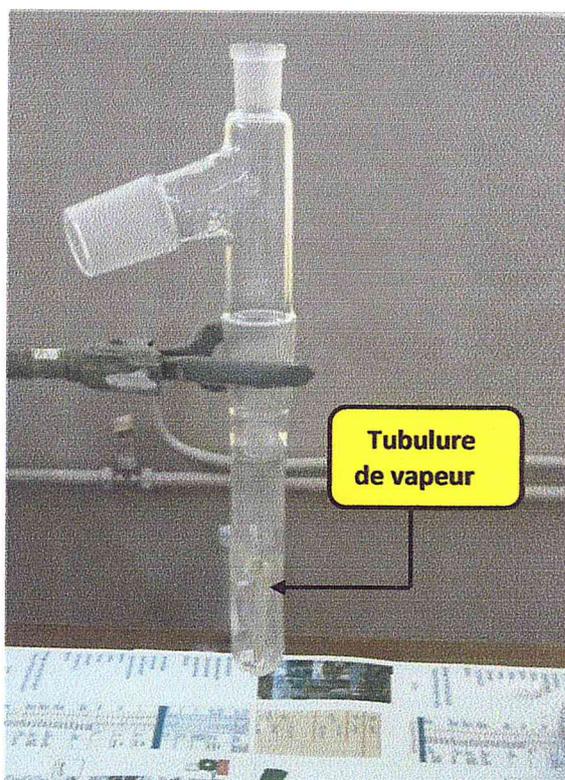


Figure 6 : Montage de Dean-Starck modifié

Le principe de la méthode consiste à placer le système de Dean Starck dans un ballon bicol (ou tricol) rempli au 2/3 d'eau et chauffé à ébullition.

La vapeur formée pénètre à travers la tubulure du système de Dean-Starck modifié (contenant l'extrait brut) et provoque l'entrainement à la vapeur d'eau de la fraction volatile sous forme d'hétéroazéotrope, le mélange est condensée au niveau du réfrigérant (figure 7).

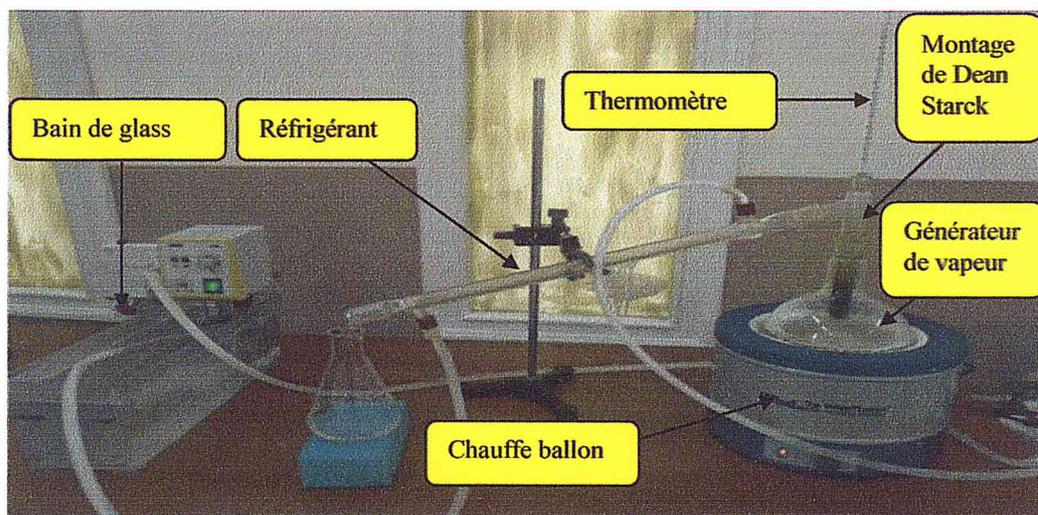


Figure 7 : Préparation de la fraction volatile à l'aide du montage Dean-Starck

II.I.4 Traitement de l'hydrolat (fraction volatile et eau)

L'hydrolat récupéré après extraction de la fraction volatile est traité avec un certain volume d'éther diéthylique, deux phases sont obtenues : une phase étherée supérieure contenant la fraction volatile et une phase aqueuse inférieure contenant l'eau et une infime partie de produits hydrosolubles.

La phase aqueuse est extraite deux à trois fois à l'éther afin d'augmenter le rendement en fraction volatile. Les phases étherées récupérées sont regroupées, séchées sur du sulfate de sodium ou de magnésium, afin d'éliminer toutes les traces d'eau et enfin distillées à la température d'ébullition normale du solvant (40°).

La fraction volatile obtenue est pesée, afin de déterminer le rendement, ensuite stockée dans un flacon ambré à une température de l'ordre de 4°C.

II.I.5 Analyse de la fraction volatile par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

La fraction volatile obtenue est soumise à une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. L'analyse est réalisée sur un chromatographe de type HP 6800 couplé à un spectromètre de masse de type HP MSD 5973.

Les conditions d'analyses sont les suivantes :

Injection

$T_{\text{injecteur}} = 250 \text{ °C}$

Mode d'injection : Splitless (avec division) = 1/90

Volume injecté = 1 μl

Colonne

HP5- MS30 m x 0.25 mm (Diamètre interne) x 0.25 μ m (épaisseur du film).

T_{four} : 90(5') – 3°C/min – 220 (10').

Débit du gaz vecteur = 5 ml/min.

Détecteur de masse

Mode d'analyse : Scan (34 à 450 amu).

T_{interface} = 280 °C

Type d'ionisation = Impact électronique (IE)

Type d'analyseur : Quadripôle

T_{Quadripôle} = 250 °C

T_{Source} = 230°C

L'identification des composés a été effectuée en se basant sur les banques de données spectrales (Wiley 7n, Nist 02, NBS75 k) ainsi que sur les données de la littérature [74].

II.1.6 Détermination de l'activité antimicrobienne de la fraction

II.1.6.1 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

La méthode utilisée est celle de l'aromatogramme, il s'agit d'un test réalisé en milieu solide dans une boîte de pétri pour la détermination de la sensibilité d'une bactérie aux substrats utilisés. Cette méthode consiste à déposer un disque de papier absorbant préalablement imprégné de l'échantillon sur une géloseensemencée avec l'inoculum microbien. Les molécules actives diffusent à partir des disques et la présence d'une zone d'inhibition, dans laquelle il n'y a pas eu de croissance, indique la présence de molécules actives à l'égard du micro-organisme testé, inversement, si les colonies se développent normalement, le produit n'a pas d'activité antimicrobienne [76].

II.1.6.2 Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés lors de notre travail sont : la Gélose de Mueller-Hinton et le milieu Sabouraud (levures). Ces milieux sont stérilisés par autoclavage à 120° C pendant 20 min.

II.1.6.3 Souches utilisées

Les souches utilisées sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance. Ces souches microbiennes utilisées dans notre étude sont de référence ATCC (American type culture collection) (Tableau 3).

Tableau 3 : Microorganismes utilisés dans le présent travail

Souches	Nature de souches	Gram	Références (ATCC)
<i>Bacillus Subtilis</i>	Bactérie	+	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie	+	ATCC 25922
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie	-	ATCC 43300
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Bactérie	-	ATCC 23308
<i>Listeria monocytogenes</i>	Bactérie	+	ATCC 49594
<i>Salmonella enterica</i>	Bactérie	-	CIP 80.39
<i>Micrococcus luteus</i>	Bactérie	+	LB 14110
<i>Bacillus cereus</i>	Bactérie	+	ATCC 14975
<i>Candida albicans</i>	Levure	/	ATCC10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Moisissure	/	ATCC 16404

II.1.6.4 Préparation du milieu de culture

Les étapes effectuées sont les suivantes :

- ✓ Faire fondre les milieux gélosés (Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures et moisissures) dans un bain marie réglé à 95°C,
- ✓ Couler aseptiquement les milieux de culture dans des boites de Pétri de 90mm de diamètre à raison de 15ml par boite,
- ✓ Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse.

II.1.6.5 Ensemencement

Le milieu de culture utilisé est la gélose de Mueller-Hinton, c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. Le principe consiste à tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. Ensuite, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée Mueller-Hinton, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Cette opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60°C à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est achevé en passant l'écouvillon sur le périphérique de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

II.1.6.6 Séchage

Les boîtes de Pétri sont séchées pendant quelques minutes à température ambiante. Les couvercles des boîtes doivent être maintenus fermés.

II.1.6.7 Préparation de la solution à tester

La quantité de la fraction volatile de *Dictyopteris membranacea* à tester est dissoute dans le méthanol à la concentration désirée (80 mg/ml), ensuite il faut agiter la solution pendant quelques secondes à l'aide d'un vortex.

II.1.6.8 Déposition des disques

Le disque imprégné de la solution de la fraction volatile, légèrement séché, est placé dans le milieu Muller-Hinton préalablement inoculée avec la souche dans une boîte de pétri. La fraction volatile diffuse radialement, le long du disque, pour atteindre la gélose contenant la souche en formant ainsi un gradient de concentration.

Après un temps de latence ou incubation à 37°C, la molécule est toxique pour l'espèce microbienne, alors, il se forme une zone ou un halo autour du disque. Dans le cas contraire, aucune zone n'est formée. La taille de la zone indique la sensibilité de la souche vis-à-vis de la molécule.

II.1.6.9 Incubation

Les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et 48 h à 30°C pour les levures.

II.1.6.10 Lecture des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse en mm sur le fond de la boîte fermée.

II.1.7 Détermination du pouvoir d'inhibition de la corrosion de la fraction volatile

Cette partie est consacrée à l'étude de l'inhibition de la corrosion de l'acier dans un milieu HCl 1 M en présence de fraction volatile de l'algue brune *Dictyopteris membranacea*.

II.1.7.1 Préparations des surfaces

Etant donné que la corrosion est un phénomène interfaciale entre le métal et son environnement, l'état de surface joue un rôle très important dans le comportement du métal vis à vis de la corrosion. La préparation des surfaces des échantillons a été effectuée en utilisant le matériel suivant : une polisseuse mécanique et du papier abrasif.

II.1.7.2 Polissage

L'opération de polissage a été effectuée avec du papier abrasif de différentes granulométries afin d'obtenir un état de surface adéquat 280, 400, 600, 1200. Ensuite les échantillons ont été lavés avec l'eau distillée.

L'une des faces de l'échantillon (utilisé dans les tests électrochimiques) a été soudée à un conducteur électrique pour permettre sa connexion au potentiostat. Le polissage a été ensuite effectué de la même manière que précédemment. L'échantillon a été couvert d'une couche isolante à l'exception de la face à exposé au milieu

II.1.7.3 Préparation des solutions

Nous avons utilisé une solution d'acide chlorhydrique 1M dans nos manipulations.

L'inhibiteur utilisé dans ce travail est la fraction volatile de *Dictyopteris membranacea* à une concentration de 0.05g/l.

II.1.7.4 Méthodes électrochimiques

Pour la caractérisation du comportement électrochimique de l'aluminium vis-à-vis de la corrosion, dans le milieu considéré, nous avons opté pour l'emploi des méthodes électrochimiques, habituellement utilisés pour l'étude des inhibiteurs :

- ✓ Evaluation du potentiel de repos en fonction du temps (Ecorr)
- ✓ Courbes de polarisation (intensité- potentiel) et la détermination des droites de Tafel

Tafel

Les mesures électrochimiques sont réalisées avec un potentiostat (PGP 201) piloté par un logiciel d'analyse (Voltera 4) (figure8).

La cellule utilisée pour les essais électrochimiques est cylindrique, en verre et a une contenance de 100 ml. Elle est munie d'une double enveloppe permettant la régularisation de la température, par l'intermédiaire d'un bain thermostat. L'électrode de travail est un disque en acier de 1 cm² de section, enrobée dans une résine époxy, qui permet d'éviter toute infiltration d'électrolyte. La contre électrode en platine est placée vis-à-vis de l'électrode de travail. L'électrode de référence est une électrode au calomel saturée ECS (+0.24 V/ENH).

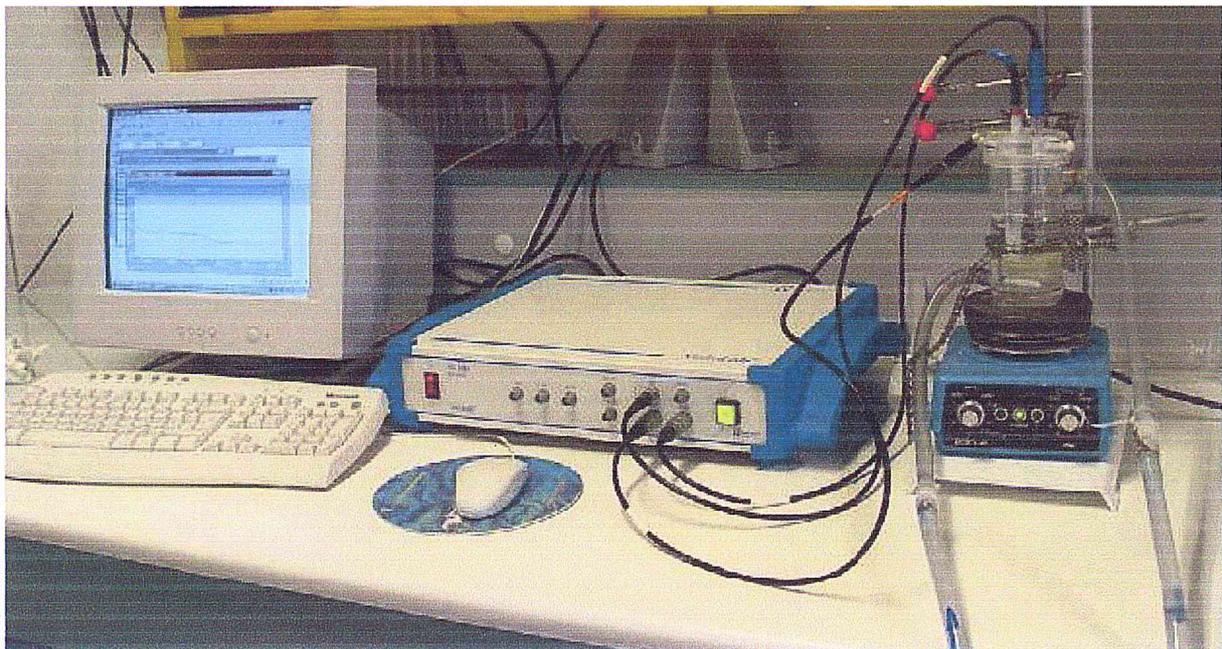


Figure 8 : Montage de mesure de potentiel et les courbes de polarisation

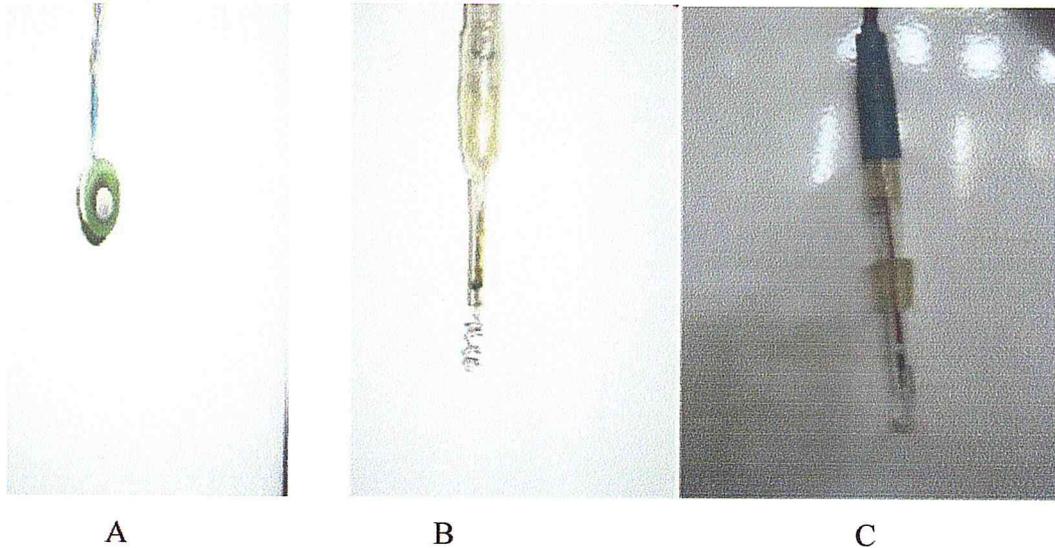


Figure 9 : (A) : électrode de travail (B) : électrode en platine (C) : électrode de référence

II.I.7.5 Principe de la méthode électrochimique

La différence entre le potentiel de corrosion de l'électrode étudiée et le potentiel qu'elle prend lorsqu'un courant I de polarisation lui est imposée est appelée "surtension: ΔE ". La courbe intensité-potentiel traduit donc, en fonction de la surtension cathodique ou anodique. Si l'on prend le logarithme de l'équation, on obtient l'équation bien connue de Tafel :

$$E = b \text{ Log } I + b' \text{ Log } I^{\circ}$$

Elle montre la linéarité entre le potentiel et le logarithme de l'intensité.

Quand ΔE est nulle $E = E_{eq}$, on a alors: $I = I^{\circ}$, ainsi l'extrapolation de la droite de Tafel au potentiel d'équilibre fournit le courant d'échange I° . De même pour

$E = E_{corr}$, l'extrapolation conduit à la détermination du courant de corrosion I_{corr} , comme le montre la figure (10).

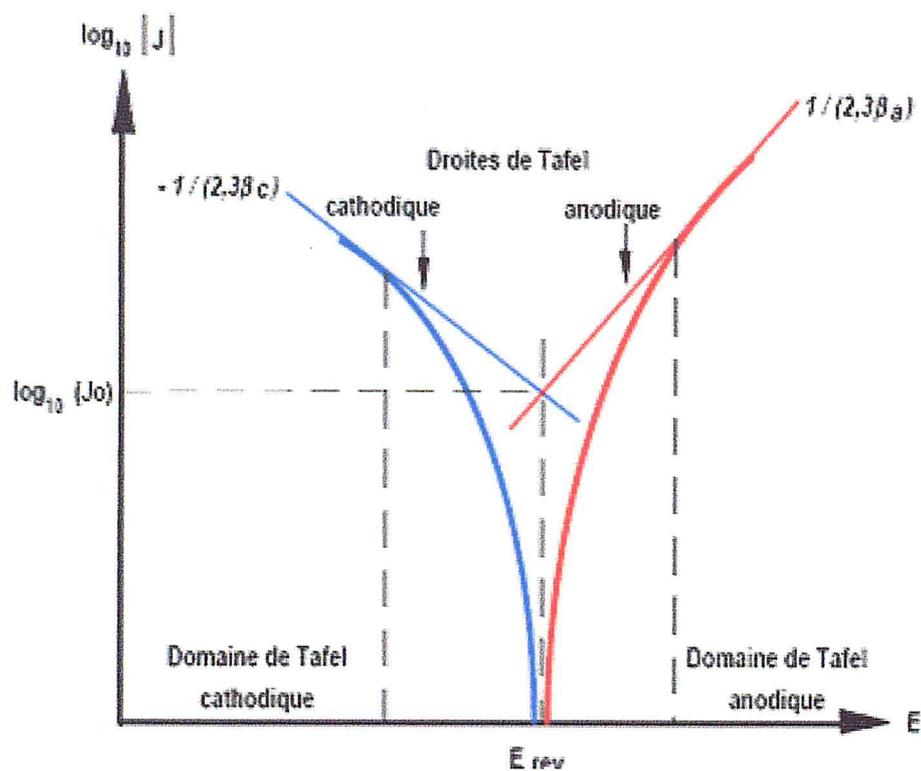


Figure 10 : Détermination des paramètres électrochimiques à partir des droites de Tafel

II.2 Résultats et discussion

II.2.1 Rendement en extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est obtenu en utilisant la relation suivante :

$$\eta_{\text{extrait}} (\%) = M_{\text{extrait}} / M_{\text{algue}} \times 100 \%$$

η_{extrait} : Rendement en extrait

M_{extrait} : Masse de l'extrait.

M_{algue} : Masse de l'algue sèche.

Le rendement en extrait obtenu dans cette étude est de 1%. Cette valeur représente la moyenne de trois manipulations.

La valeur du rendement est assez faible par rapport à d'autres algues de la même famille des algues brunes bien que pour certaines espèces présentent des rendements similaires [74]. Les rendements d'extraits obtenus à partir de plantes terrestres sont dans la même gamme de valeurs [77].

Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait obtenu, qui consistent notamment en l'aspect, la couleur et l'odeur, sont présentées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Propriétés organoleptiques de l'extrait de *Dictyopteris membranacea*

Caractères organoleptiques		
Aspect	Couleur	Odeur
Pâteux	Verdâtre	Caractéristique

Ces propriétés sont généralement celles de tous les extraits d'algues brunes. La couleur verte est liée à la présence de la chlorophylle qui masque la couleur jaune orange de la fucoxanthine.

II.2.2 Rendement en fraction volatile

Le rendement en fraction volatile est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$\eta_{FV} (\%) = (M_{FV} / M_{EX}) * 100$$

η_{FV} : Rendement en fraction volatile en pourcent

M_{FV} : Masse de la fraction volatile en gramme

M_{EX} : Masse de l'extrait en gramme

Le rendement moyen de six manipulations est de 15%. Ce rendement est comparable à celui obtenu sur la même espèce lors d'un travail antérieur [74]. Il a été montré que l'entraînement à la vapeur d'eau appliqué à la concrète permet généralement d'obtenir des rendements supérieurs à ceux de l'hydrodistillation à partir de la matière végétale [78].

II.2.3 Propriétés organoleptiques de la fraction volatile

Les propriétés organoleptiques de la fraction volatile, estimées par nous-mêmes, sont regroupées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Propriétés organoleptiques de la fraction volatile *Dictyopteris membranacea*

Caractères organoleptiques		
Aspect	Couleur	Odeur
Liquide visqueux	Jaunâtre	Forte odeur Caractéristique

La fraction volatile de *Dictyopteris membranacea* est caractérisée par une odeur assez forte et caractéristique, elle fut parmi les premières essences issues d'algues à intéresser l'industrie de la parfumerie [79].

II.2.4 Analyse de la fraction volatile par CG/SM

Une masse de 2 mg de la fraction volatile est dissoute dans 0.2 ml d'acétate d'éthyle, la solution est injectée dans les conditions citées ci-dessus (&II.I.5).

Le profil chromatographique (figure 11) révèle la présence de 35 pics. L'identification des différents composés est réalisée en se basant sur les banques de données spectrales ainsi que

sur les données de la littérature [74]. Nous présentons dans le tableau 6 les produits identifiés avec l'ordre d'élution, le temps de rétention et la formule brute.

Tableau 6 : Composition chimique de la fraction volatile de l'algue brune *Dictyopteris membranacea*

N°	Tr (min)	Nom du composé	Formule	% aire
1	6.97	Bicyclo[4.1.0]heptane, 7-methylene	C ₈ H ₁₂	Trace
2	8.47	Dictyoptérène A	C ₁₁ H ₁₈	32.4
3	8.57	3-(hex-1-ényl) cyclopentène	C ₉ H ₁₄	2.0
4	9.88	6-(but-1-ényl)cyclohepta-1,4-diène	C ₁₁ H ₁₆	0.5
5	10.55	6-butylcyclohepta-1,4-diène	C ₁₁ H ₁₈	1.3
6	14.92	NI1	/	1.2
7	15.01	Undéc-1-ène-3-one	C ₁₁ H ₁₈ O	1.0
8	17.25	Undécan-3-one	C ₉ H ₁₄	1.0
9	17.88	α-Cubébène	C ₁₅ H ₂₄	Trace
10	19.01	α-Copaène	C ₁₅ H ₂₄	0.5
11	19.41	β-Bourbounène	C ₁₅ H ₂₄	0.6
12	19.51	NI2	/	0.6
13	19.88	Tétradécane	C ₁₄ H ₃₀	0.6
14	20.81	NI3	/	0.6
15	21.23	6-épi-β-Cubébène	C ₁₅ H ₂₄	0.5
16	22.03	Aromadendrène	C ₁₅ H ₂₄	5.0
17	22.98	Azulene,1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl	C ₁₅ H ₂₄	0.6
18	23.20	Albicanol	C ₁₅ H ₂₀ O	12.0

19	24.11	Cadina-3,9-diène	C ₁₅ H ₂₄	0.6
20	25.14	(-)-Calamenène	C ₁₅ H ₂₂	10
21	25.44	5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-triméthyl-2(4H)-Benzofuranone	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	1.4
22	25.69	NI4	/	1.0
23	27.85	Hexadécane	C ₁₆ H ₃₄	0.3
24	29.15	Naphthalène, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-diméthyl-4-(1-méthylethyl)	C ₁₅ H ₂₄	1.0
25	29.68	β-Cubébène	C ₁₅ H ₂₄	2.0
26	29.85	β-Copaène	C ₁₅ H ₂₄	0.6
27	30.13	NI5	/	1.5
28	30.93	Naphthalene,1,6-diméthyl-4-(1-méthylethyl)	C ₁₅ H ₁₈	Trace
29	31.57	Heptadécane	C ₁₇ H ₃₆	0.8
30	32.86	NI6	/	0.8
31	35.50	Acétate d'octadécyle	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0.6
32	36.74	6,10,14-triméthyl-Pentadécane-2-one,	C ₁₈ H ₃₆ O	0.7
33	38.00	(3-oxo-undec-ènyl)-sulfure	C ₁₆ H ₂₄ OS	15.2
34	42.89	5,8,11,14-Eicosatétraénoic acid, ester méthylique	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	1.2
35	43.08	Eicosa-5,8,11,14,17-pentaénoate de méthyle	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	1.0

NI : non identifié

Concernant les produits non identifiés, nous avons donné le rapport m/z ainsi que le pourcentage des principaux fragments de leur spectre de masse.

NI1 : 28 (67), 41(18), 57 (100), 69 (16), 95 (39), 113 (48), 150 (1).

NI2 : 28 (100), 43 (84), 55 (13), 79 (27), 99 (35), 123 (3), 150 (8), 166 (2).

NI3 : 28 (100), 43 (37), 55 (9), 69 (12), 83 (9), 93 (8), 105 (7), 111 (11), 120 (9), 126 (12), 161 (9), 204 (1).

NI4 : 28 (100), 32 (28), 77 (4), 91 (4), 115 (10), 128 (17), 143 (48), 171 (4), 185 (8), 200 (24), 205 (1).

NI5 : 28 (100), 32 (28), 41 (15), 58 (18), 86 (75), 95 (9), 114 (21), 161 (3), 198 (12), 204 (2).

NI6 : 28 (100), 32 (28), 41 (13), 55 (9), 79 (12), 91 (19), 110 (11), 122 (14), 135 (7), 150 (12), 164 (19), 191 (3), 206 (13).

L'examen du tableau 6 montre que la composition chimique est dominée par une fraction de sesquiterpènes assez fréquemment rencontrés dans le genre *Dictyopteris* [44] suivie d'une fraction d'hydrocarbures en C₁₁ caractéristiques des espèces du même genre [80] et jouant un rôle très important en tant que phéromones.

En termes de composés majeurs, le dictyoptérene A est largement majoritaire par rapport à tous les autres composés, ce résultat a été déjà relevé sur la même espèce [74]. La fraction en C₁₁ est caractérisée par la présence des composés tels que dictyoptérene A, 6-(but-1-ényl) cyclohepta-1,4-diène et le 6-butylcyclohepta-1,4-diène.

Cependant, nous avons noté la présence surprenante de la fraction des sesquiterpènes dans la fraction volatile obtenue dans notre cas par hydrodistillation en comparaison à un travail antérieur [74] effectué sur la même espèce et consacré à la comparaison de trois techniques d'extraction de la fraction volatile à partir de l'extrait étheré : extraction par hydrodistillation en utilisant le montage de Dean Starck (comme dans notre cas), extraction par hydrodistillation assistée aux microondes et extraction aux fluides à l'état supercritique. Il a été reporté dans ce travail que la fraction sesquiterpénique n'est présente que dans la fraction volatile obtenue par hydrodistillation assistée aux microondes. C'est la raison pour laquelle nous avons parlé de présence inattendue et surprenante de la fraction des sesquiterpènes dans notre fraction volatile obtenue par hydrodistillation.

Dans le même contexte et selon le même travail, l'absence de sesquiterpènes dans la fraction volatile obtenue par hydrodistillation et par extraction aux fluides à l'état supercritique est liée à la faible volatilité des sesquiterpènes (hydrodistillation) et leur faible solubilité dans le dioxyde de carbone supercritique (extraction au CO₂ supercritique) dans les conditions expérimentales utilisées.

Dans notre cas, la présence de sesquiterpènes dans la fraction volatile est liée, fort probablement, au débit de vapeur d'eau utilisé, que nous avons trouvé assez élevé par rapport aux manipulations habituelles dans l'entraînement de la fraction volatile mais également à la durée d'entraînement qui a été de trois heures. En effet, le débit de vapeur élevé, imposé par une puissance de chauffe importante, combiné à une durée d'entraînement longue a permis

l'entraînement de la fraction des sesquiterpènes. Cette interprétation est tout à fait cohérente avec celle donnée dans le travail antérieur. Par contre nous avons noté, sans surprise la présence, d'une fraction d'acide gras et d'un dérivé soufré très caractéristique de la fraction volatile des espèces du genre *Dictyopteris* [80].

Nous avons pu identifier avec exactitude 29 produits, ce qui représente 82,86% de la composition globale.

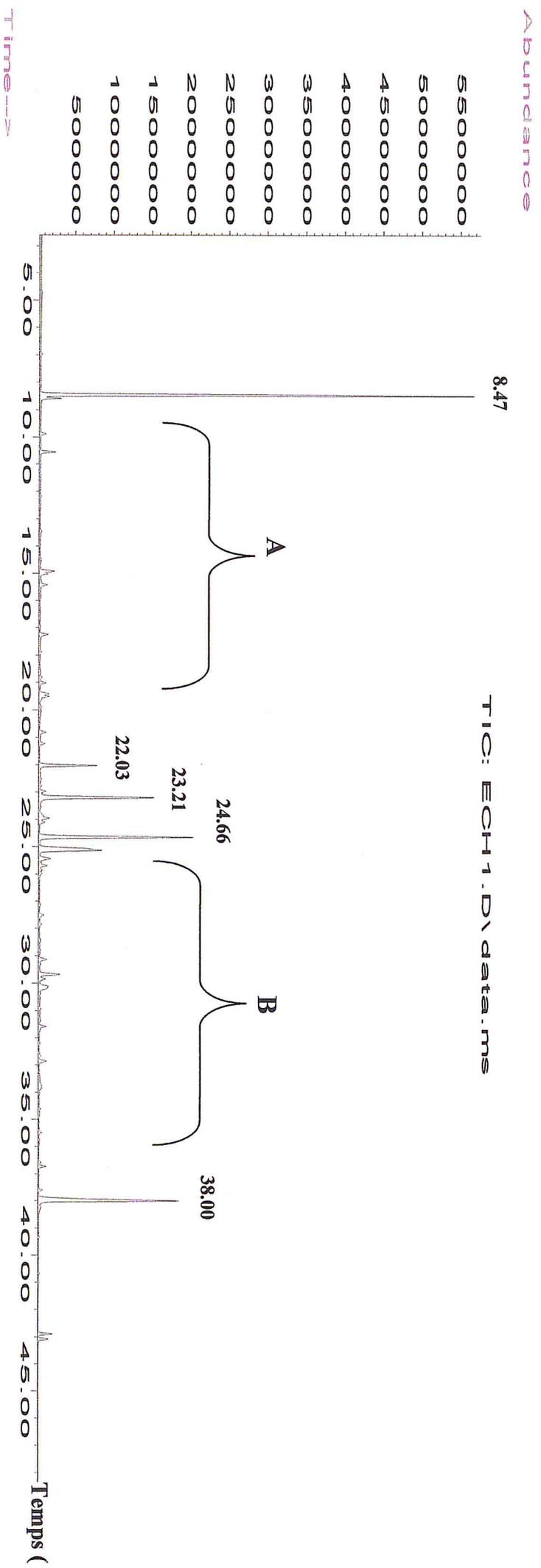


Figure 11 : Profil chromatographique d'analyse de la fraction volatile de *Dictyopteris membranacea*

Abundance

TIC: ECH1.D\data.ms

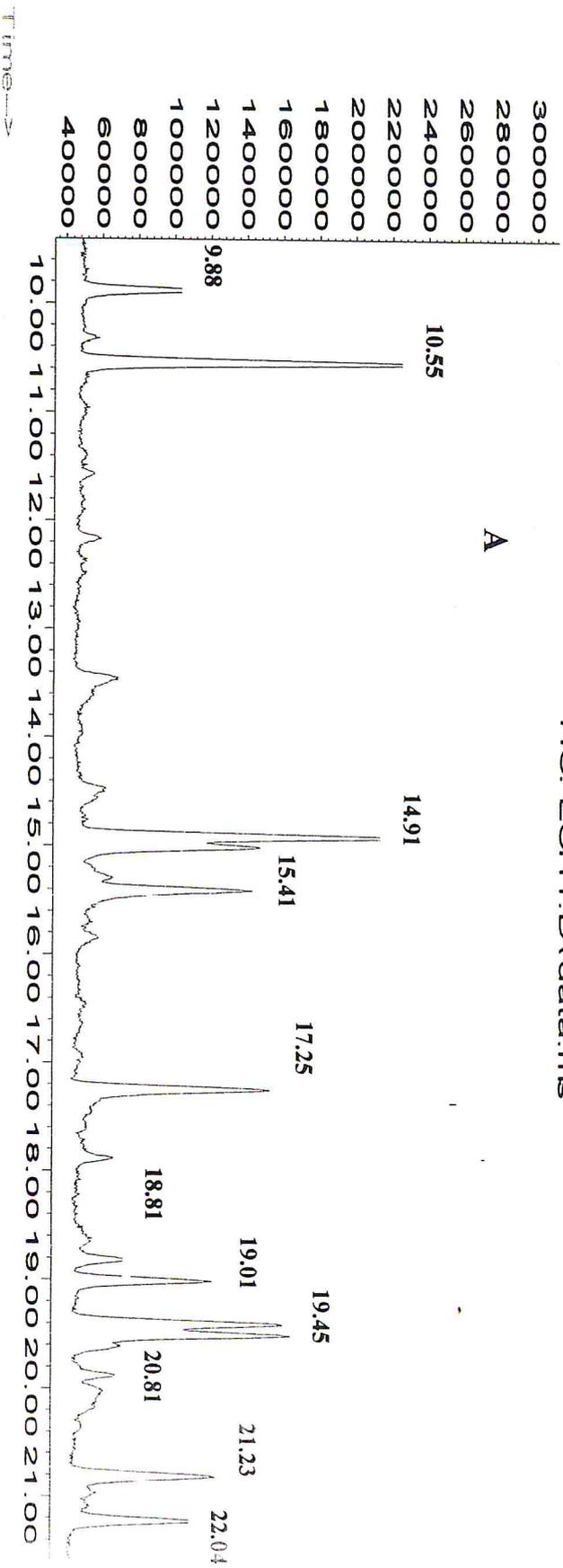


Figure 11 A : Agrandissement des pics du chromatogramme de la fraction volatile de *Diclyopteris membranacea*

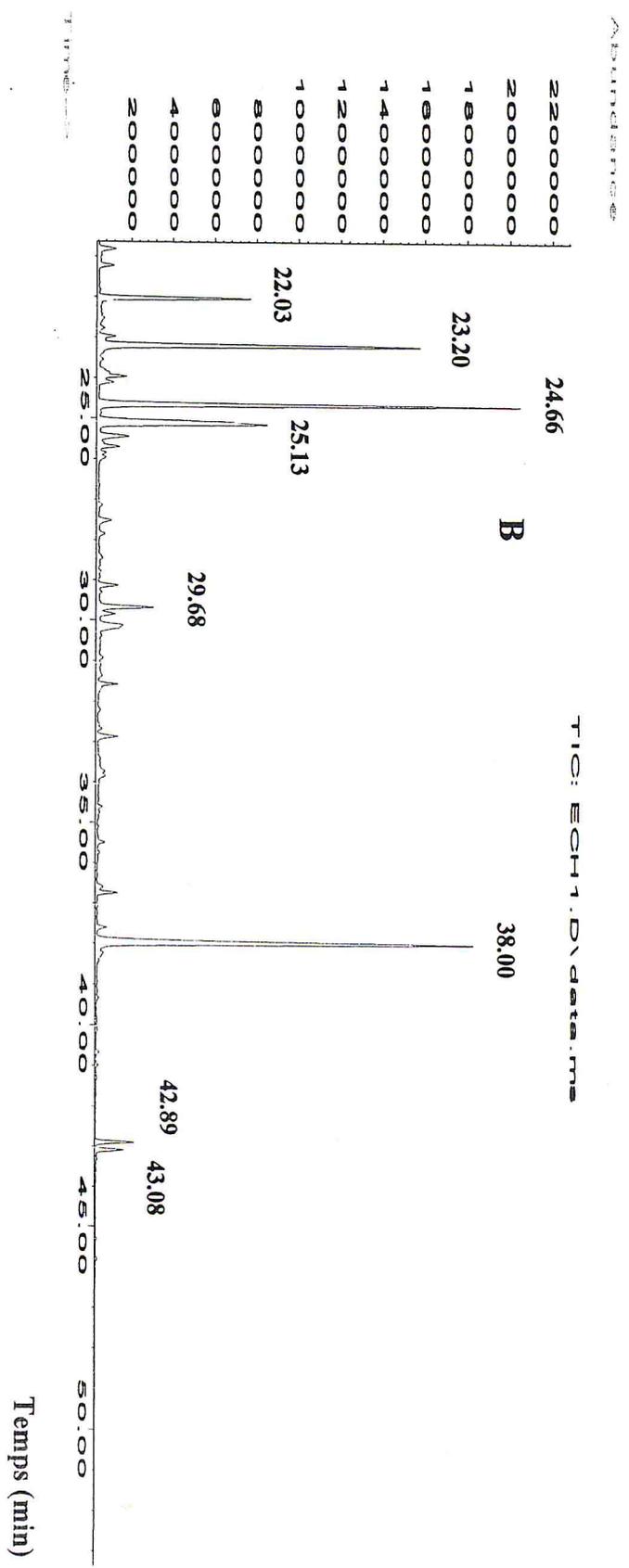


Figure 11B : Agrandissement des pics du chromatogramme de la fraction volatile de *Dictyopteris membranace*

II.2.5 Détermination de l'activité antibactérienne de la fraction volatile

Les résultats de l'activité antimicrobienne de la fraction volatile de *Dictyopteris membranacea* sur les souches de références par mesure de diamètre d'inhibition de la croissance des microorganismes sont donnés dans les tableaux 7 et 8 et les figures 12 et 13.

Tableau 7 : Diamètre d'inhibition obtenu pour les différents microorganismes

Souches	Gram	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>Bacillus subtilis</i>	+	Pas de zone
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	34
<i>Escherichia coli</i>	-	17
<i>Bacillus cereus</i>	+	26
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-	20
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	9
<i>Salmonella enterica</i>	-	12
<i>Micrococcus luteus</i>	+	13

Les résultats de cette activité antibactérienne ont montré que la fraction volatile de l'algue brune *Dictyopteris membranacea* a produit des zones d'inhibition très intéressantes à une concentration de 80 mg/ml vis-à-vis de deux souches Gram (+) *Staphylococcus aureus* (34 mm) et *Bacillus sp* (26 mm), ce qui dénote d'une forte activité antibactérienne. Par contre, la souche *Micrococcus luteus* montre une légère zone d'inhibition, avec un diamètre de 13mm, par rapport aux deux autres souches *Listeria monocytogenes* et *Bacillus subtilis*. La souche *Listeria monocytogenes* a montré une faible zone d'inhibition (9 mm), par contre, *Bacillus subtilis* a été caractérisée par l'absence totale d'activité.

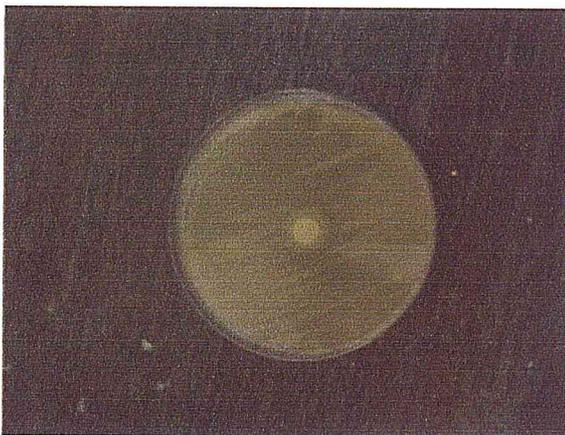
Les deux souches Gram (-) *Agrobacterium tumefaciens* et *Escherichia coli*, ont montré des zones d'inhibitions de 20 mm et de 17 mm correspondant à une activité modérément inhibitrice de la fraction volatile. Toutefois, nous avons constaté que la souche *Salmonella enterica* a montré une zone d'inhibition de 12 mm.

Des travaux antérieurs sur l'activité antibactérienne [63] de l'huile essentielle obtenue à partir de *Dictyopteris membranacea*, récoltée en Turquie, évaluée vis-à-vis d'un certain nombre de souches, à une concentration de 0.015 µg/disk, ont noté l'absence d'activité chez toutes les souches à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui a montré une faible activité inhibitrice.

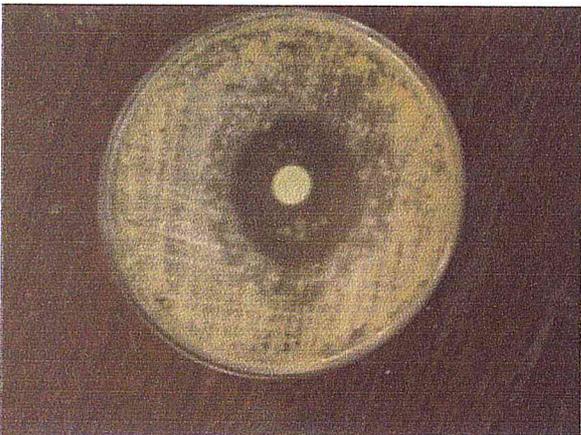
La figure (12) montre les zones d'inhibition de l'activité antibactérienne obtenues lors des différentes expériences.



A



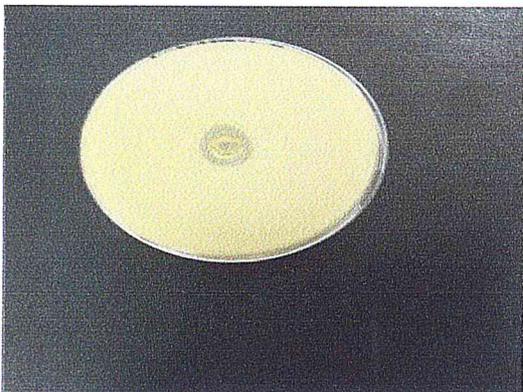
B



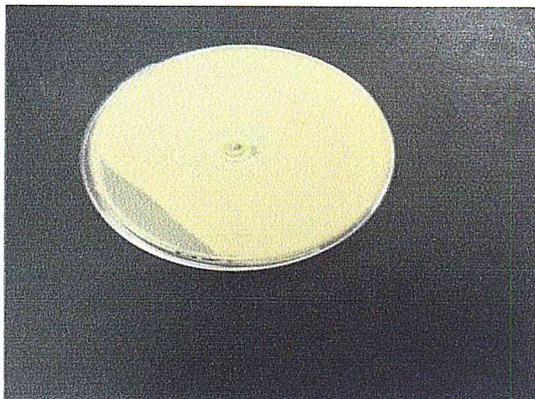
C



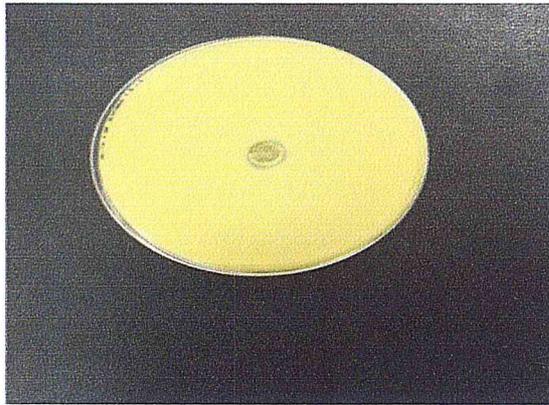
D



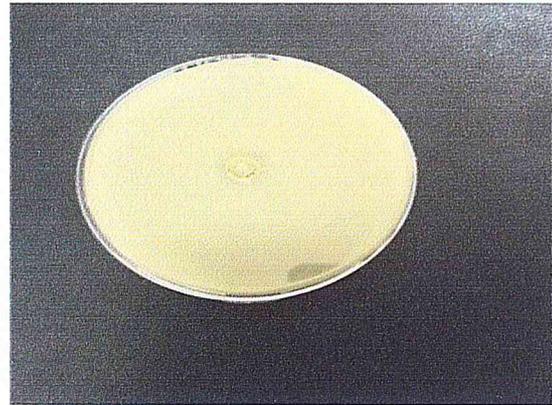
E



F



G



H

Figure 12: Activité antibactérienne de la fraction volatile de *Dictyopteris membranacea* contre **A** : *Bacillus cerues* , **B** : *Bacillus subtilis*, **C** : *Staphylococcus aureus*, **D** : *Escherichia Coli*, **E** : *Agrobacterium tumefaciens*, **F**: *Listeria monocytogenes*, **G**: *Micrococcus luteus*,**H** : *Salmonella enterica*.

Concernant l'activité antifongique, nous avons testé uniquement deux champignons, une levure et une moisissure. Les résultats obtenus (tableau 8) montrent une activité très fortement inhibitrice de la fraction volatile vis-à-vis de la levure *Candida albicans* avec une zone d'inhibition estimée à 30 mm. Cependant, nous avons noté l'absence d'activité antifongique vis-à-vis d'*Aspergillus Brasiliensis*. Des travaux antérieurs [81] sur l'activité antifongique de l'extrait de *Dictyopteris membranacea* ainsi que ceux de deux autres espèces (*Cystosira mediterranea* et *Cystoseira myrica*) d'algues brunes ont montré l'absence d'activité antifongique.

Tableau 8 : Activité antifongique de la fraction volatile de *Dictyopteris membranacea*

Souches	Identification	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>Candida albicans</i>	Levure	30
<i>Aspergillus Brasiliensis</i>	Moisissure	Pas de zone

La figure (13) montre la zone d'inhibition de l'activité antifongique obtenue lors des différentes expériences.

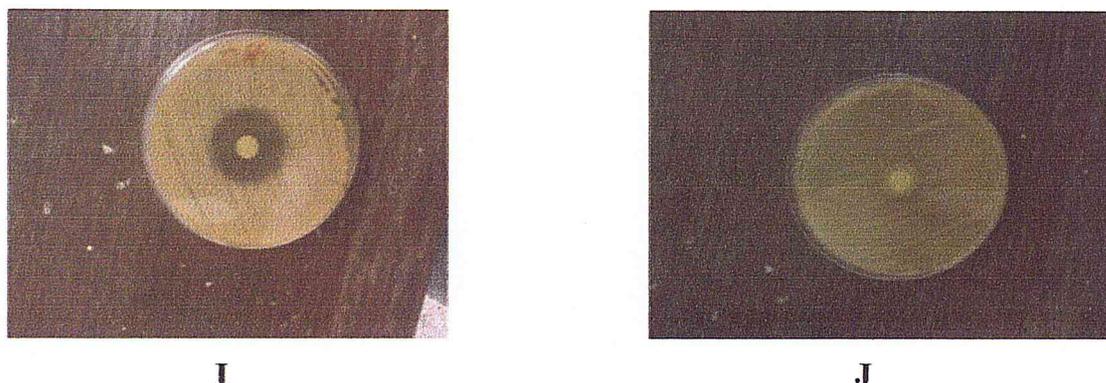


Figure 13: Activité antifongique de la fraction volatile de *Dictyopteris membranacea* contre :
I : *Candidat Albicans*, **J** : *Aspergillus Brasiliensis*

En effet, la variation du pouvoir antimicrobien peut être liée à la technique d'extraction [82], la saison de récolte et les facteurs environnementaux tels que la température, la concentration de l'oxygène dissous et la salinité qui jouent un rôle très important sur le développement et la croissance des algues et sur l'élaboration de métabolite bioactifs [83].

II.2.6 Détermination de l'activité anticorrosion de l'aluminium de la fraction volatile

II.2.6.1 Etude l'effet inhibiteur de la fraction volatile et de l'extrait de *Dictyopteris membranacea* vis-à-vis la corrosion de l'aluminium

II.2.6.1.1 Gravimétrie

Afin d'obtenir des résultats fiables et reproductibles, le substrat d'aluminium, subit avant chaque essai, un prétraitement. Il consiste en un polissage, de manière identique, de la surface du substrat à l'aide du papier abrasif de granulométrie de plus en plus fine (180, 400, 600, 1000, 1200), suivi d'un rinçage à l'eau distillée pour enlever les produits de traitement. Les échantillons d'aluminium utilisés sous forme circulaire de diamètre 1 cm, sont immergés verticalement pendant 1 heure et 2heure dans la solution HCl 1M, en absence d'agitation et maintenue à température constante (293K). Les échantillons sont de nouveau pesés.

L'efficacité inhibitrice (pouvoir protecteur d'un inhibiteur) E% est donnée par la relation :

$$E \% = (W_o - W_{inb} / W_o) * 100$$

Avec : E % : Efficacité d'inhibition

W_o : la perte de poids de l'aluminium sans l'inhibiteur.

W_{inb} : la perte de poids de l'aluminium avec l'inhibiteur.

Tableau 9 : Effet de l'inhibition de la corrosion de l'aluminium en milieu HCl 1M en absence et en présence de la fraction volatile de *dictyopteris membranacea* par la méthode de gravimétrie

Pièces	Poids avant immersion (g)	Temps d'immersion	Poids après immersion (g)
pièce1 à blanc	3.10	1h	3.08
Pièce 2 à blanc	2.88	2h	2.85
Pièce 3 avec FV	3.07	1h	3.06
Pièce 4 avec FV	2.65	2h	2.64

Nous remarquons d'après le tableau (9) que la vitesse de corrosion diminue avec la présence de l'inhibiteur et atteint une valeur de 72% à une concentration en fraction volatile de 0.5 g/L et de 40% à une concentration en extrait brut de 0.5 g/l. Cette efficacité peut être attribuée à une meilleure adsorption des molécules des inhibiteurs à la surface de l'aluminium et forment ainsi une couche plus épaisse, et par conséquent, elles produisent un meilleur isolement du matériau.

b) Tracé des courbes potentiodynamiques

Dans la méthode potentiodynamique, le potentiel de l'électrode est stabilisé pendant 30 min avant de procéder au tracé des courbes $I=f(E)$. Les courbes de polarisation en absence et en présence de différents inhibiteurs, en milieu HCl 1M à 20°C sont présentées sur la figure 15. L'allure des courbes $\log I=f(E)$ est sensiblement identique. Dans le domaine cathodique, l'ajout des inhibiteurs induit une diminution importante du courant partiel cathodique.

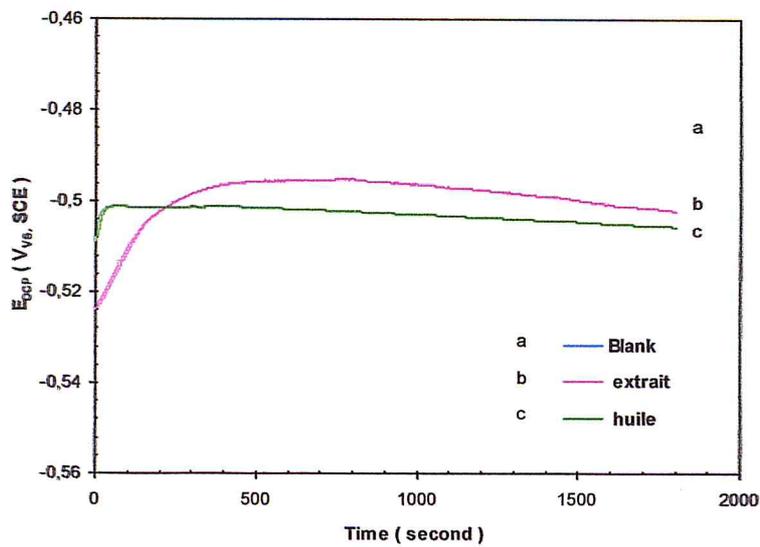


Figure 14 : Evolution du potentiel de corrosion $E_{corr}=f(t)$ de l'Al 2017 dans HCl 1M en absence et en présence de l'huile et l'extrait.

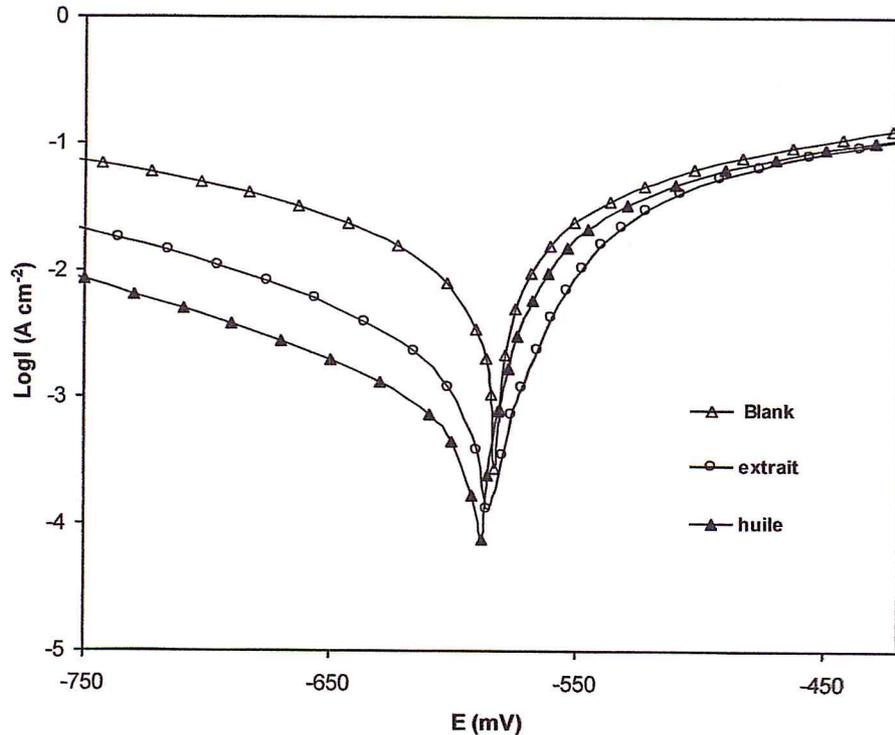


Figure 15 : Courbes de polarisation de l'Al 2017 dans HCl 1M en absence et en présence de l'huile et l'extrait.

Nous constatons que l'addition de ces inhibiteurs provoque un déplacement léger du potentiel de corrosion vers des valeurs plus cathodiques. Ce déplacement s'accompagne d'une nette diminution de la densité de courant cathodique. Ces résultats indiquent que les inhibiteurs utilisés ont le même effet et agissent d'une manière prédominante comme des inhibiteurs cathodiques. Cet effet peut être lié au potentiel des sites cathodiques qui est plus positif que celui des sites anodiques, et par conséquent l'adsorption des molécules des inhibiteurs est beaucoup plus probable sur les sites cathodiques. Les branches anodiques sont légèrement affectées en présence de ces inhibiteurs.

L'expression de l'efficacité inhibitrice $E\%$ en fonction de la densité de courant de corrosion est donnée par : $E\% = (i_0 - i_{inb} / i_0) * 100$.

i_0 et i_{inb} sont les valeurs de densité de courant de corrosion de l'aluminium déterminées par extrapolation des droites de Tafel au potentiel de corrosion E_{corr} . L'efficacité inhibitrice est : 70%.

L'examen des courbes de polarisation confirme le caractère inhibiteur des composés étudiés de la corrosion de l'alliage d'aluminium 2017 obtenu précédemment à l'aide des mesures de perte de poids. Les densités de courant de corrosion (i_{corr}) diminuent avec l'ajout des inhibiteurs, il en est de même pour les vitesses de corrosion.

L'addition des inhibiteurs modifie légèrement les valeurs de E_{corr} , et nous remarquons également que la présence de l'inhibiteur se traduit par une diminution des densités de courant anodique et cathodique, mais beaucoup plus les densités cathodiques. Donc, les inhibiteurs peuvent être classés comme des inhibiteurs cathodiques en milieu chlorhydrique.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Le présent travail a porté sur l'étude de la composition chimique, l'activité biologique et l'activité inhibition de la corrosion vis-à-vis de l'aluminium en milieu acide chlorhydrique de la fraction volatile de l'algue brune *Dictyopteris membranacea*.

La fraction volatile a été obtenue par entrainement à la vapeur d'eau à partir de l'extrait brut à l'aide du montage de Dean-Starck modifié avec un rendement moyen de 15%.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CG/SM) a permis de relever 35 composés et d'identifier, en se basant sur les banques de données spectrales ainsi que les données de la littérature, 30 composés. La composition de la fraction volatile est dominée par la fraction sesquiterpénique, dont le produit majoritaire est le(-)-Calamenene avec une teneur de 10%, elle se caractérise également par la présence d'autres produits comme l'alpha.-Cubébène et le Copaène, ces derniers sont couramment rencontrés dans les huiles essentielles de plantes terrestres. La fraction volatile est marquée, également, par la présence d'une fraction d'hydrocarbures en C 11 dont le produit majoritaire est le dictyoptère A avec une teneur de 32.4%, mais aussi par la présence entre autre du 6-(but-1-ényl) cyclohepta-1,4-diène et du 6-butylcyclohepta-1,4-diène. La fraction volatile renferme aussi un dérivé soufré et une classe d'acides gras.

L'activité antimicrobienne a été évaluée contre huit souches bactériennes pathogènes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* et *Micrococcus luteus*.

Les résultats obtenus ont mis en exergue la forte activité antibactérienne de la fraction volatile montrée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 34 mm.

L'activité antifongique a été déterminée sur une levure et une moisissure. La fraction volatile a montré un pouvoir très fortement inhibiteur vis-à-vis de *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 30 mm.

Les tests d'inhibition de la corrosion de l'aluminium par la fraction volatile ont révélé des résultats très encourageants, en effet, l'efficacité d'inhibition de la fraction volatile a été estimée à 70%. Ce résultat pourrait être amélioré en faisant subir à la fraction volatile un fractionnement sur colonne chromatographique afin de concentrer les produits actifs vis-à-vis de la corrosion. Il y a lieu de souligner que l'extrait brut de *Dictyopteris membranacea* a montré une efficacité d'inhibition de 40 %.

Références bibliographiques

- [1] A. Ramade, « Eléments d'écologie appliquée », 4ème Ed. Dunod, 689, France, 2009.
- [2] S. Garon-Lardiere, « Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales) », Thèse de Doctorat, Université, De Bretagne Occidentale, 2004.
- [3] J. Pitton de Tournefort, « Éléments de botanique », 1694.
- [4] M. Chadeffaud, L. Emberger, «Traité de Botanique», Tome 1. Les végétaux non vasculaires – Paris : Ed. Masson, 103, 1960.
- [5] J. Feldmann, «Les algues, Précis de sciences biologiques : botanique», Paris : Ed. Masson, 249, 1963.
- [6] F. Gévaert, « Importance des facteurs de l'environnement et du phénomène de photo inhibition sur la production des grandes algues marines », Thèse de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille, France, 2001.
- [7] J. Ribier, J-C. Godineau, «Les algues – Connaissance, utilisation, culture», Paris : Ed. Flammarion, 281p, 1984.
- [8] P. Gayral, J. Cosson, «Connaître et reconnaître les algues marines», Ouest France : 1986, 222p, 1986.
- [9] C. Montagne, «Cryptogames algériennes ou plantes recueillies par M. Roussel aux environs d'Alger», Ann. Sci. Nat., Fr., 2, Série 2, 10, 268-279, 1838.
- [10] C. Montagne, «Exploration scientifique de l'Algérie», Bory de Saint-Vincent et Durieu de Maisonneuve, 197p, 1846-1849. + 16 Pl.
- [11] J.G. Agardh, «Till algernes systematic femte afd», Lunds Univ. Arsskr., Sverige, 23(2), 174p, 1887.
- [12] J. Cabioc'h, J.-Y. Floc'h, A. Le Toquin, C.-F. Boudouresque, A. Meinesz, M. Verlaque, «Guide des Algues des mers d'Europe, Manche/Atlantique», Paris : Delachaux et Nestlé, 231p, 1992.
- [13] A.T. direxit, «Journal complémentaire du dictionnaire des sciences», Ed C.L.F Panckoucke, Paris, 1824.
- [14] E. Breitmaier, «Terpenes flavor fragrance», Copyright © WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 3-527-31786-4, 2006.
- [15] D.J. Faulkner, «Marine natural products, Natural Product Reports», 15 (2), 113–158, 1998.

- [16] D.J. Faulkner, «Marine natural products, Natural Product Reports», 16, 155-198, 1999.
- [17] D.J. Faulkner, «Marine natural products », Nat. Prod. Rep., 17, 7-55, 2000.
- [18] D.J. Faulkner, «Marine natural products », Nat. Prod. Rep., 18, 1- 49, 2001.
- [19] D.J. Faulkner, «Marine natural products », Nat. Prod. Rep., 19, 1- 48, 2002.
- [20] J. R. Hanson, «Diterpenoids», Nat. Prod. Rep., 17, 165 – 174, 2000.
- [21] J-R. Rho, H-S. Lee, C. J. Sim, J. Shin, «Highly oxygenated diterpenoids from the sponge *Phorbasp. sp.* », Tetrahedron, 58, 9585-9591, 2002.
- [22] A.R. Díaz-Marrero, E. Dorta, M. Cueto, A. San-Martín, J. Darias, «Conformational analysis and absolute stereochemistry of 'spongian'-related metabolites», Tetrahedron, 60, 1073-1078, 2004.
- [23] S.S. Mitchell, M. K. Harper, D.J. Faulkner, «Spongiabutenolides A–D: Minor hydroxybutenolide diterpenoids from a Philippines *Spongia sp.* », Tetrahedron, 55, 10887-10892, 1999.
- [24] P. D. Bremner, M. S. J. Simmonds, W. M. Blaney, N. C. Veitch, «Neo-clerodane diterpenoid insect antifeedants from *Ajuga reptans cv catlins giant*», Phytochemistry, 47, 1227-1232, 1998.
- [25] H. Miyaoka, M. Shimomura, H. Kimura, Y.Y-S. Kim, Y. Wataya, «Antimalarial activity of kalihinol A and new relative diterpenoids from the Okinawan sponge», Tetrahedron, 54, 13467-13474, 1998.
- [26] J.B. Harborne, «Twenty-five years of chemical ecology», Nat. Prod. Rep., 18, 361-379, 2001.
- [27] A. Abad, C. Agulló, A.C. Cuñat, A.B. García, «Synthesis of oxygenated spongiane-type diterpenoids from carvone», Tetrahedron Letters, 43, 7773-7775, 2002.
- [28] H. Miyaoka, H. Shida, N. Yamada, H. Mitome, Y. Yamada, «Total synthesis of marine diterpenoid kalihinene X», Tetrahedron Letters, 43, 2227-2230, 2002.
- [29] O. Schwarz, R. Brun, J. W. Bats, H-G. Schmalz, «Synthesis and biological evaluation of new antimalarial isonitriles related to marine diterpenoids», Tetrahedron Letters, 43, 1009-1013, 2002.
- [30] H. Miyaoka, T. Baba, «Total synthesis of marine diterpenoid stolonidiol», Tetrahedron Letters, 42, 9233-9236, 2001.
- [31] K-L. Erickson, « Constituents of *Laurencia* .In Marine Natural Products », J. Nat. Prod., 5, 131-257, 1983.
- [32] I. Maier, D.G. Muller, «Sexual phéromones in algae», Biol. Bull., 170, 145-175, 1986.

- [33] W. Boland, «The chemistry of gamete attraction : Chemical structures, biosynthesis, and abiotic degradation», Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 37-43, 1995.
- [34] W. Boland, D.G. Muller, «On the odor marine seaweed *Dictyopteris membranacea* : new C11 hydrocarbons marine brown alga–III», Tetrahedron Letters, 28, 307-310, 1987.
- [35] G. Pohnert, W. Boland, «The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms», Nat. Prod. Rep., 19, 108-122, 2002.
- [36] S. Adolph, S.A. Poulet, G. Pohnert, «Synthesis and biological activity of $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -unsaturated aldehydes from diatoms», Tetrahedron letters, 59, 3003-3008, 2003.
- [37] M. Hombeck, W. Boland, «Biosynthesis of the algal pheromone Fucoserratene by the fresh-water diatom *Asterionella formosa* (Bacillariophyceae) », Tetrahedron letters, 54, 11033-11042, 1998.
- [38] F. Zhang, T. Endo, R. Kitagawa, H. Kabeya, T. Hirotsu, « Synthesis and characterization of a novel blend of polypropylene with *Chlorella*», J. Mater. Chem., 10, 2666-2672, 2000.
- [39] C. Neumann, W. Boland, «Stereochemical on algal pheromone biosynthesis. A model study with the flowering plant *senecio isatideus* (Asteraceae) », Eur. J. Biochem., 191, 453-459, 1990.
- [40] R.G. Berger, F. Drawert, H. Kollmannsberger, S. Nitz, B. Schraufstetter, «Novel volatiles in pineapple fruit and their sensory properties», Agric. Food Chem., 33, 232-235, 1985.
- [41] C. Neumann, W. Boland, «Stereochemical on algal pheromone biosynthesis. A model study with the flowering plant *senecio isatideus* (Asteraceae) », Eur. J. Biochem., 191, 453-459, 1990.
- [42] I. Schnitzler, W. Boland, M.E. Hay, «Organic sulfur compounds from *Dictyopteris* spp. Deter feeding by an herbivorous amphipod (*Ampithoe longimana*) but not by an herbivorous sea urchin (*Arbacia punctulata*) », J. Chem. Ecol., 24, 1715-1732, 1998.
- [43] P. Au K. Roller, R.E. Moore, «Isolation of S-(3-oxoundecyl)Thioacetate, Bis-(3-oxoundecyl)Disulphide, (-)-3-Hexyl-4,5-dithiacycloheptanone, and S-(trans-3-Oxoundec-4-enyl) Thioacetate from *Dictyopteris*», Chemical Communications, 273, 503-504, 1971.
- [44] R.E. Moore, J. Mistysyn, J.A. Pettus, «(-)-Bis-(3-acetoxyundec-5-enyl)Disulphide and S-(-)-3-Acetoxyundec-5-enyl Thioacetate, Possible Precursors to Undeca-1,3,5-trienes in *Dictyopteris*», J. C. S. Chem. Comm., 2113, 326-327, 1972.
- [45] K.W. Glombitza, H. Stoffelen, U. Murawiski, J. Bielaczek, H. Egge, «Antibiotics from algae Bromophenols from *Rhodomelaeceae*», Planta Medica, 25, 105-114, 1974.

- [46] A. J. Smit, «Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products», *J. Appl. Phycol.*, 16, 254-262, 2004.
- [47] V. J. Paul, W. Fenical, «Natural products chemistry and chemical defense in tropical marine algae of the phylum chlorophyta», *Bioorganism Marina Chemistry*, 1 (1987) 1-29.
- [48] P. D. Steinberg, S. Schneider Kjelleberg, «Chemical defences of seaweeds against microbial colonization», *Biodegradation*, 8, 211–220, 1997.
- [49] D. J. Faulkner, «Marine natural products», *Nat. Prod. Rep.*, 19, 1-48, 2002.
- [50] A. Chbani, H. Mawlawi, S. Etahiri, «Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padinapavonica*, récoltée sur les côtes libanaises», *Afrique Science* 7(3), 91 – 96, 2011.
- [51] E. Deslandes, E. Pondaven, T. Auperin, C. Roussakis, J. Guézennec, V. Stiger, C. Payri, «Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6)», *J. Appl. Phycol.*, 12, 257–262, 2000.
- [52] B.G. Fleury, A. Kelecom, R. C. Periera, V.L. Teixeira, «Polyphenol, terpene and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Pheophyta)», *Bot. Mar.*, 37, 457- 462, 1994.
- [53] B.N. Ravi, P.T. Murphy, R. O. Lidgard, R. G. Warren, R. J. C. Wells, «18 terpenoid metabolites of the brown alga *Cystophora moniliformis*», *Aust. J. Chem.*, 35, 171-182, 1982.
- [54] J.L. Reichelt, M.A. Borowitzka, «Antimicrobial activity from marine algae: Result of a large screening programme», *Hydrobiol.*, 1 116/117, 158-168, 1984.
- [55] S. Etahiri, A. EL Kouri, V. Bultel-Ponce, M. Guyot, O. Assobhei, «Antibacterial bromo phenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*», *Natural Product communication*, 2, 749-752, 2007.
- [56] A.D. Wright, G.M. Konight, C.K. Angerhofer, P. Greenidge, A. Linden, R.D. Aundez, «Anti-malarial activity: the search for marine-derived natural products with selective anti-malarial activity», *J. Nat. Prod. Rep.*, 59, 710-716, 1997.
- [57] S. Etahiri, V. Bultel-Poncé, C. Caux, M. Guyot, «New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*», *J. Nat. Prod.*, 64(1-2), 1024-1027, 2001.
- [58] M. C. Rocha de Souza, C. Texeira-Masques, C. M. Guera-Dore, F. R. ferreira da silva, H. A. olivera-rocha, E. Lisboa -Leite, «Antioxydant activity of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds», *J. Appl. Phycol.*, 19, 153-160, 2007.
- [59] D. Zubia, D. Robledo, Y. Freile-Pelegrin, «Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico», *J. Appl. Phycol.*, 19, 449-458, 2007.

- [60] S. Etahiri, V. Bultel- Ponce, O. Assobhei, « Une nouvelle molécule à activité antibiotique à partir de l'algue rouge *Pterosiphonia complanata* », Brevet Marocain N° 27732, 2004.
- [61] L. Ktari, M. Guyot, « A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica* », J. Appl. Phycol., 11, 511-513, 1999.
- [62] S. Cacamesse, R. Azzolina, G. Rurnari, M. Gormaci, S. Grasso, «Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae», Bot. Mar., 23, 285-288, 1980.
- [63] G. Ozdemir, Z. Horzum, A. Sukatar, N-U. Karabay-Yavasoglu «Antimicrobial Activities of Volatile Components and Various Extracts of *Dictyopteris membranacea* and *Cystoseira barbata* from the Coast of Izmir, Turkey», Pharm Biol., 44, 183–188, 2006.
- [64] E. Deslandes, E. Pondaven, T. Auperin, C. Roussakis, J. Guézennec, V. Stiger, C. Payri, «Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of a hydro ethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line» (NSCLC-N6), J. Appl. Phycol., 12 (2000) 257–262.
- [65] E. Taskin, M. Ozturk, E. Taskin, O. Kurt, «Antibacterial activities of some Aegean sea (Turkey) », African Journal of biotechnology, 6(24), 2746-2751, 2007.
- [66] C. Mutai, C. Vagias, D. Abatis, V. Roussis., «Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extract and lupine triterpenes », J. Ethnopharmacol., 10, 1016-1050, 2009.
- [67] K. Padmakumar, K. Ayyakkannu, «Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from Southern Coast of India», Bot. Mar., 40, 507-515, 1997.
- [68] D. Landolt, «Corrosion et chimie de surface des métaux», 1st Ed, Alden Press, Oxford, 489, 1993.
- [69] E. Schaschl, «Methods for evaluation and testing of corrosion inhibitor», Ed, BYC.C Nathan, Houston, NACE, corrosion inhibitor, USA, National Association of corrosion Engineers, 2841.
- [70] S. Manimegalai, P. Manjula, «Thermodynamic and Adsorption studies for corrosion Inhibition of Mild steel in Aqueous Media by *Sargasam swartzii* (Brown algae) », J. Mater. Environ. Sci., 6 (6), 1629-1637, 2015.
- [71] WB Wan Nik, O. Sulaiman, AF. Ayob, MF Ahmad, MM Rahman, «Marine Extracts as Corrosion Inhibitor for Aluminum in Seawater Applications», Int. J. Eng. Sci., 2, 455- 458, 2012.
- [72] M. Ramdani, H. Elmsellem, N. Elkhiaati, B. Haloui, A. Aouniti, M. Ramdani, Z. Ghazi, A. Chetouani, B. Hammouti, «*Caulerpa prolifera* green algae using as eco-friendly corrosion inhibitor for mild steel in 1 M HCl media» , Der Pharma Chemica., 7(2), 67-76, 2015.

- [73] D. K. Verma, F. Khan , «Green approach to corrosion inhibition of mild steel in hydrochloric acid medium using extract of spirogyra algae», *Green Chemistry Letters and Reviews.*, 2016 , 9, 52–60, 2016.
- [74] M. El Hattab, «contribution à l'étude des algues brunes méditerranéennes et de l'océan atlantique- Modélisation moléculaire », thèse de doctorat d'état, Blida -2005.
- [75] E. Jawetz, J.-L. Melnick, E.-A. Adelberg., « Microbiologie médicale », Presses Université Laval, 629, 1973.
- [76] E. Guenther, «The essential oils», 1. Huntington N-Y: R.E. Krieger, 1972.
- [77] M. El Hattab, H. Sultan Saif Al Easa, A. Tabaries, L. Pioveti, J.-M. Kornprobst, «Volatile Components of the Phaeophyceae *Hormophysa cuneiformis* Growing Along Qatar Coasts», *J. Essent. Oil Res.*, 19, 37–39, 2007.
- [78] W. Boland, P. Ney, L. Jaenicke, «A "closed-loop-stripping" technique as a versatile tool for metabolic studies of volatils», *Analysis of volatiles*, Walter de Gruyter Co Berlin: 371-380, 1984.
- [79] W. Boland, D-G. Muller, «On the odor of the Mediterranean seaweed *Dictyopteris membranacea* ; new Cn hydrocarbons from marine brown algae-Hi. *Tetrahedronletters*», 28 (3): 307-310, 1987.
- [80] I. Schnitzler, W. Boland, M. E. Hay, «Organic Sulfur Compounds from *Dictyopteris* spp. Deter Feeding by an Herbivorous Amphipod (*Ampithoelongimana*) but Not by an Herbivorous Sea Urchin (*Arbaciapunctulata*) », *J Chem. Ecol.*, 24 (10), 1715-1732- 1998.
- [81] T. Ainane, « Valorisation de la biomasse algale du Maroc : potentialités pharmacologiques et Applications environnementales cas des algues brunes », thèse de Doctorat, Université Hassan II – Casablanca, 2011.
- [82] W.M. Salem, H. Galal, F. Nasr El-deen, « Screening for antibacterial activities in some marine algae from the red sea (Hurghada, Egypt) » *African journal of microbiology research*, 5(15), 2160-2167, 2011.
- [83] Y. Farid, S. Etahiri, O. Assobhei, «Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc), criblage et optimisation de la période de la récolte », *Journal of Applied Biosciences*, 24, 1543-1552, 2009.