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

Université Abderrahmane Mira – Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie

Département de biologie physico-chimique

Filière : Sciences Biologiques

Option: Biochimie Fondamentale



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Optimisation de l'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale par la méthode du plan de l'expérience (Box-Behnken)

Présenté par :

ABDOUNE Hanane & DJAMA Katia

Soutenu le : Le 25 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Mme DEBBACHE-BENAIDA N. MCA Présidente

Mme AMIR H. MCA Encadrant

Mme BOUDJOUAN A. MCB Examinatrice

Année universitaire: 2022/2023

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier avant tout « Dieu » le tout puissant et miséricordieux pour nous avoir, donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Louanges et remerciements à « Allah » qui nous a permis aujourd'hui de nous rassembler pour soutenir ce modeste travail.

Nous tenons en premier lieu à remercier notre encadreur *Mme AMIR HASSIBA*, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche et pour la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené à la bonne porte. Qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous exprimons notre appréciation à *Mme DEBACHE-BENAIDA N*, qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements chaleureux à *Mme***BOUDJUOAN A, qui nous a fait l'honneur d'examiner le travail.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers le Doctorant*Mr DRIS NABIL*, pour sa précieuse contribution, son soutien inestimable et ses encouragements constants tout au long de ce travail.

Un grand merci pour le binôme *MERNACHE Khaled* et *MOUHLI Nadjim* pour leur précieux soutien dans l'accomplissement de ce mémoire.

Toute nos gratitudes a tous les enseignants de sciences de la nature et de la vie, surtout ceux qui ont contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes :

A mon Père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de prévenance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour ses sacrifices et ses précieux conseils.

A ma Mère,

Pour sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égale dans les moments les plus difficiles de ma vie.

A mon grand-père qui est toujours à mes côtés.

A la mémoire de ma grand-mère qui m'a encouragé d'y aller loin dans mes études.

A ma chère sœur Thiziri.

A mes chers frères Kamel et Sofiane.

A toute ma grande famille ABDOUNE.

A notre promoteur Mme AMIR qui a été toujours avec nous.

Une dédicace spéciale à mon binôme Katia.

Je dédier une mention spéciale à nos collèges Khaled et Nadjim

A tous mes amis qui m'ont aidé d'une façon ou d'autres.

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes :

A mon Père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de prévenance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour ses sacrifices et ses précieux conseils.

A ma Mère,

Pour sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égale dans les moments les plus difficiles de ma vie.

A ma chère sœur Yasmine.

A ma belle-sœur Anissa.

A mes chers frères : Zakaria, Faouzi, Larbi, Yanis.

A toute ma grande famille DJAMA.

A notre promoteur Mme AMIR qui a été toujours avec nous.

Une dédicace spéciale à mon binôme Hanane.

Je dédier une mention spéciale à nos collèges Khaled et Nadjim

A tous mes amis qui m'ont aidé d'une façon ou d'autres.

KATIA

Sommaire

Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
I. Présentation de Salvia chudaei	02
I.1.Description et classification botanique	02
I.2.Répartition géographique	03
I.3.Composition chimique	03
I.4.Utilisation pharmacologique et traditionnelle	03
II.Généralité sur les composés phénoliques	03
II.1.Définition	03
II .2. Voies de synthèse des composés phénoliques	04
II.3. Principales classes des composés phénoliques	04
II.3.1.Acides phénoliques	05
II.3.2.Les flavonoïdes	05
II.3 .3. Les tanins	05
II.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques	06
III. Méthode d'extraction des composés phénoliques	06
III.1. Définition	06
III.2.Quelques méthodes d'extraction	07
III.2.1.Extraction par macération	07
III.2.2.Extraction assistée par ultrason (EAU)	07
III.3.Méthodologie des plans d'expériences	08
III.3.1. Définition	
III.3.2Principe de base des plans d'expériences	09
III.3.3.Types de plans d'expériences	09
III.3.4.Principaux avantages des plans d'expériences	10

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes......12

I.1.Préparation du matériel végétal	12
I.2.Optimisation des conditions et de la technique d'extraction des composé	s phénoliques 12
I.2.1. Etude préliminaire	12
I.2.2.Application du plan d'expérience	13
I.3. Détermination de la teneur en antioxydants	15
I.3.1. Dosage des composés phénoliques	15
I.3.2. Dosage des flavonoïdes	15
I.4. Evaluation de l'activité antioxydante	16
I.4.1. Activité « scavenger » du radical DPPH	16
I.4.2. Pouvoir réducteur du fer	16
I.4.3.Pouvoir chélateur du fer ferreux	17
I.4.4 Activité « scavenger » du radical ABTS	17
I.5. Etude statistique	18
II. Résultats et discussions	19
II.1.Etude préliminaire	19
II.1.1. Effet de la nature du solvant d'extraction	19
II.1.2. Effet de la concentration du solvant d'extraction	21
II.1.3. Effet de la durée d'extraction	23
II.1.4. Effet du rapport solide/liquide	24
III. Application du plan d'expérience	26
III.1. Modèle mathématique	
III.2. Effet des facteurs	28
III.2.1. Effet linéaire	28
III.2.2. Effet quadratique	29
III.2.3. Effet d'interaction	29
III.2.4. Analyse de la surface de réponse (ASR)	29
III.3. Validation du model	
III.4. Conditions optimales	34
Conclusion	37
Références	
bibliographiques	39
Annexes	

Liste des abréviations

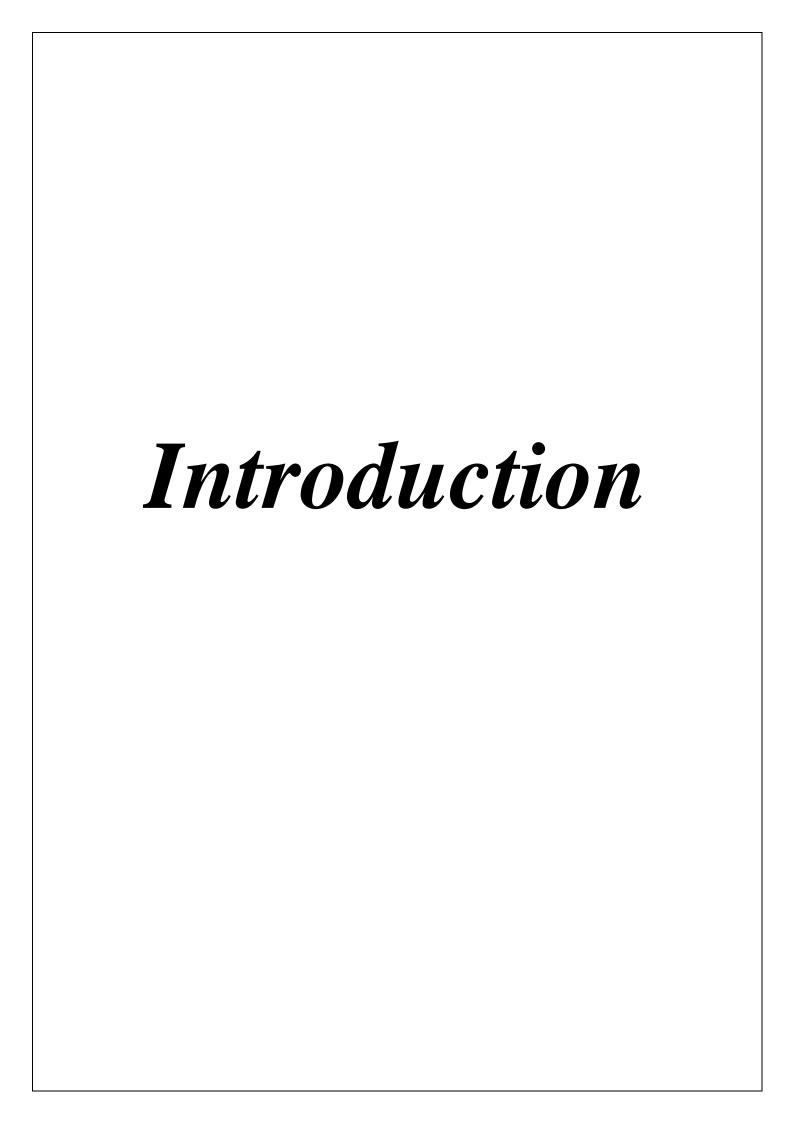
Abréviation	Signification	
EAU	Extraction Assistée par Ultrason.	
CPT	Composés Phénoliques Totaux.	
ED	Eau Distillé.	
ТСР	Teneur en Composés Phénoliques.	
EAG	Equivalent Acide Gallique.	
EQ	Equivalent Quercetine.	
EAA	Equivalent Acide Ascorbique.	
ANOVA	Analyse of Variance.	
JMP	John's Machimtosh Project.	
MS	Matière Sèche.	
TF	Teneur en Flavonoïdes.	
PRF	Pouvoir Réducteur du Fer.	
RMSE	Root Mean Squar Err	
PCF	Pouvoir chélateur du fer ferreux	

Liste des figures

Numéro	Titres		
Figure 01	Salvia chudaei Battandier&Trabut	02	
Figure 02	Cycles de compression et raréfaction induits par les ondes sonores.	08	
Figure 03	Effet de la nature du solvant sur la teneur en composés phénoliques du <i>Salvia chudaei</i> .	20	
Figure 04	Effet de la nature du solvant sur l'activité « scavenger » du radical DPPH de Salvia Chudaei.	21	
Figure 05	Effet de la concentration du solvant sur la teneur en composés phénoliques de <i>Salvia Chudaei</i> .	22	
Figure 06	Effet de la concentration du solvant d'extraction sur l'activité « scavenger » du radical DPPH de <i>SalviaChudaei</i> .	22	
Figure 07	Effet de la durée d'extraction sur la teneur en composés phénoliques de <i>Salvia chudaei</i> .	23	
Figure 08	Effet de la durée d'extraction sur l'activité « scavenger » du radical DPPH de <i>Salvia Chudaei</i> .	24	
Figure 09	Effet du rapport solide/liquide sur la teneur en composées phénoliques de Salvia Chudaei.	25	
Figure 10	Effet du rapport solide/liquide et sur l'activité « scavenger » du radical DPPH de Salvia Chudaei.	26	
Figure 11	Surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en composés phénoliques.	30	
Figure 12	Surface de réponse pour les différentes interactions sur l'activité antioxydante.	32	
Figure 13	Profileur de prédiction pour les conditions optimales obtenues par la méthode ultrasons.	35	

Liste des tableaux

Numéro	Titres			
Tableau I	La taxonomie de Salvia chudaei.	02		
Tableau II	Les principales classes de composés phénoliques.	04		
Tableau III	Les principaux logiciels de plans d'expériences et les sites internet correspondants.	11		
Tableau IV	Récapitulatif des paramètres testés lors de l'étude préliminaire et les conditions d'extraction optimales sélectionnées.			
Tableau V	Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction assistée par ultrasons.	14		
Tableau VI	Valeurs expérimentales et prédites des teneurs en composés phénoliques (TCP) et de l'activité DPPH de <i>Salvia chudaei</i> obtenues avec le plan Box-Behnken.	27		
Tableau VII	Coefficients de régression estimés du modèle polynomial de second degré.	28		
Tableau VIII	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les teneurs en composés phénoliques.	33		
Tableau IX	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur l'activité anti-radicalaire (DPPH).	34		
Tableau X	Conditions optimales, résultats réelles et prédites des teneurs en composés phénoliques de l'activité DPPH obtenus par ultrasons.	35		
Tableau XI	Tableaux récapitulative des différents teneurs CP flavonoïdes (TF) et quelques activités antioxydantes.	36		



Introduction

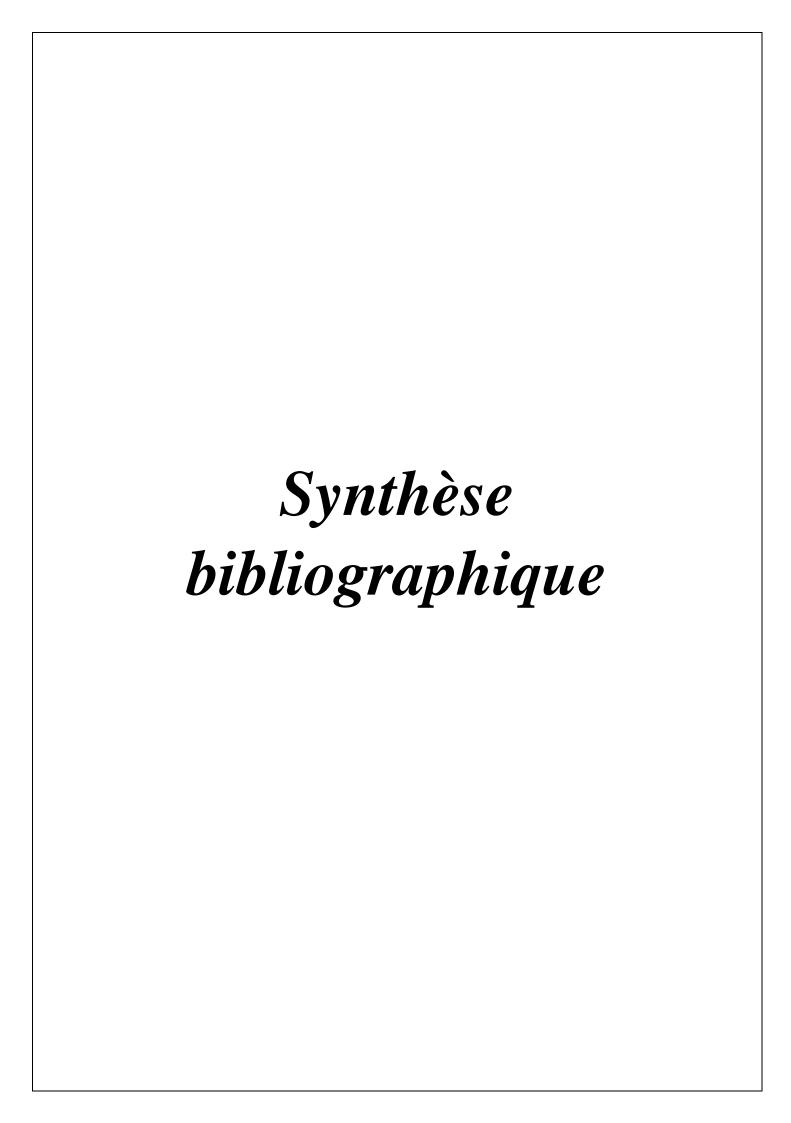
Depuis l'Antiquité, l'humanité a exploité différentes plantes présentes dans son environnement pour traiter et guérir diverses maladies (**Dia**, **2019**). Les plantes produisent une grande diversité de métabolites secondaires pour la défense et la survie dans l'écosystème. Ces métabolites, dépassant 100 000 substances identifiées, appartiennent à trois classes chimiques principales : les terpènes, les composés phénoliques et les alcaloïdes (**Bouthaina**, **2008**).

Les antioxydants naturels représentent une alternative prometteuseen raison de leur grande diversité de structures et d'interactions chimiques, ainsi que des multiples activités biologiques qu'ils possèdent (**Bouayed et al., 2007**). Parmi ces composés potentiellement intéressants, les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (**Hirasa et Takemasa, 1998**).

L'Algérie possède une riche diversité de plantes, en particulier dans la région saharienne qui présentent un intérêt thérapeutique considérable. Parmi celles-ci, se trouve *Salviachudaei*, qui est une plante endémique du Sahara, largement utilisée par la population algérienne, en particulier dans la médecine traditionnelle (**Ozenda**, **1958**; **Hammiche et** *al.*, **2006**). Les analyses phytochimiques des espèces de *Salvia* ont révélé la présence de divers types de composés, notamment des composés phénoliques (**Kamatou et** *al.*, **2008**).

Dans ce contexte, notre travail s'inscrit dans le cadre d'étudierl'optimisation de quelques paramètres d'extraction assistée par ultrasons, en utilisant le modèle de plan d'expérience de Box-Behnken, sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante du *Salviachudaei*. Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Etude de l'effet de quelques paramètres d'extraction (la nature et la concentration du solvant, la durée d'extraction et le rapport solide/liquide) sur la teneur en composés phénoliques et l'activité anti-radicalaire (DPPH) ;
- Optimisation de ces paramètres d'extraction en utilisant le plan d'expérience Box-Behnken;
- Etude de l'activité anti-radicalaire et réductrice de l'extrait qui donné la meilleur teneur en composés phénoliques, en appliquant plusieurs tests.



I. Présentation de Salviachudaei

I.1.Description et classification botanique

Salviachudaei est une sauge sauvage à environ 30 à 40 cm de haut, sous forme d'un arbrisseau vivace très rameux de couleur gris bleuté. Les tiges sont striées et feuillues, avec des feuilles étroiteset allongées, crispées sur la marge. À l'extrémité des tiges, les inflorescences en épis portent de longs poils laineux qui masquent les petites fleurs d'un bleu pâle(**Ozenda**, 1977).

- ✓ Nom Tamahaq: Awhihat.
- ✓ Nom arabique: Tagroufte (Hammiche et Maiza, 2006).



Figure(01): SalviachudaeiBattandier&Trabut(Boukhalfa, 2017).

Lataxonomie de *Salviachudaeia* été représentée dans le tableau(I) suivant (Quezel et Santa, 1963) :

Règne	Plantae	
Embranchement	Spermatophyta	
Sous-embranchement	Magnoliophyta	
Classe	Magnoliopsida	
Famille	Lamiaceae	
Genre	Salvia	
Espèces	SalviachudaeiBattandier&Trabut	

I.2. Répartition géographique

SalviachudaeiBatt. &Trab est une plante endémiqued'Algérie et du Tchad, elle est très commune au Sahara central(Ozenda et al., 1958). Elle existe généralement dans le Hoggar(Quezel et Santa, 1963).

I.3. Composition chimique

Les analyses phytochimiques des espèces de *Salvia* ont montré la présence de divers types de composéschimiques, tels que les phénols simples, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les stéroïdes et les cardénolides(**Lu et al., 2002 ;Kamatou et al., 2008**), les terpénoïdes (les hydrocarbures monoterpéniques, les monoterpène oxygéné, les hydrocarbures sesquiterpéniques et les sesquiterpène oxygénée) (**Baharfar et al., 2009 ; Miguel et al., 2011 ; Al-Jaber et al., 2012**).

I.4. Utilisation pharmacologique et traditionnelle

Les espèces de *Salvia* ont été décrites comme des espèces avec un large éventail d'activités biologiques, y compris anti-cholinestérase, antibactérienne, anticancéreuse et antioxydante(**Perry et al., 2003**).

Salviachudaei est utilisée en médecine traditionnelle contre les rhumatismes, les maladies rénales et surtout les maladies digestives telles que les diarrhées et les ulcères (Ramdane et al., 2015). La poudre de Salviachudaeiest utilisée comme un antidiabétique, antipyrétique et insecticide (Tlili et al., 2021). La partie aérienne est utilisée localement en médecine traditionnelle pour traiter la dysménorrhée, les douleurs abdominales, les crampes et la gonorrhée(Maiza, 2008).

Selon les recherches effectuées, par les herboristes, lestradipraticiens et les pharmaciens, les maladies les plus traitées par *salviachudaei* sont les pathologies digestives (23,2%), les affections rhumatismales (18,8%)et les maladies rénales (16,9 %) (**Hammoudi**, 2015).

II.Généralité sur les composés phénoliques

II.1.Définition

Les composés phénoliques constituent legroupe de molécules le plus répandudans le règne végétal avec plus de 8000 structures phénoliques connues (**Beta et** *al.*, **2005**).

Les composés phénoliquessont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux. Ils jouent un rôle majeur dans la défense contre les agressions environnementales (Gee et Johnson, 2001). Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements hydroxyles (Kabran et *al.*, 2014).

II.2. Voies de synthèse des composés phénoliques

Les composées phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate, celles de l'acide shikimique conduisant après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs dérivées et celle de l'acétate conduisant aux poly-cétoesters ou polyacétates (malonate)(Chira etal., 2008).

II.3.Principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être classés en différentes catégories, en fonction du nombre d'atomes de carbone présents et de la structure de base de leur squelette de carbone (**TableauII**)(**Macheix, 1996**).

TableauII: Les principales classes de composés phénoliques (Macheix, 1996).

Nombre d'atomes de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple	Plante alimentaire
6	C6	Phénols simples	Catechol	/
7	C6-C1	A.Hydroxybenzolques	p Hydroxybenzolque	Epices, fraise
9	C6-C3	A.Hydroxycinnamiques Coumarines	acide Caféique Scopoline	Pomme, P. de terre
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	Noix
13	C6-C1-C6	Xanthone	Mangiferine	Mangue
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isollavonoides	Quercetol,cyanidol Daidzeine	Fruits, légumes Soja, pois
n	(C6-C3) n	Lignines	/	Fruits A noyau
n	(C15) n	Tannins	/	Raisin rouge, Kaki

II.3.1.Acides phénoliques

Le terme d'acide phénolique désigne tous les composés organiques qui possèdent aumoins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Benhammou, 2011).

• Acides hydroxycinnamiques

Les acides cinnamique et caféique sont des représentants communs dugroupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et deméthoxylation(Cowan, 1999). L'acide cinnamique ou hydroxycinnamique est retrouvé dans les plantes sous forme d'esters d'acidesquiniques, d'acide shikimique et d'acide tartrique (Macheix et al., 2005).

Les dérivés de l'acide cinnamique ont une structure de base C6-C3, ils comprennent les acides *p*-coumariqueset ses isoméres les acides o- et m-coumariques(**Macheix et** *al.*,2006).

• Acides hydroxybenzoiques

Ces composés sont des dérivés de l'acide benzoïque et possèdent une structure générale de base de type (C6-C1). Les plus répandus sont : l'acide salicylique et l'acide gallique(**Bruneton**, 1999). Ils se retrouvent souvent sous forme libre, combinée en esters ou hétérosides(**Boubekri**, 2014).

II.3.2.Flavonoïdes

Il s'agit du groupe le plus représentatif des composés phénoliques, avec un squelette de base composé de 15 atomes de carbone (C6-C3-C6). Ces composés se trouvent sous forme d'aglycones (génines) ou de glycosides (Gert et Stephan, 2001). Les flavonoïdes peuvent être classés en une douzaine de catégories en fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central (Bruneton, 1993). Les classes les plus répondue des flavonoïdes sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (Chira et al., 2008).

II.3.3.Tanins

Le terme tanins est utilisé pour décrire un groupe de substances phénoliques polymériques qui ont une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (g/mol). En plus des réactions typiques des phénols, ces substances ont la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Généralementils sont subdivisés en tanins hydrolysables et tanins condensés (Haslam, 1996 ; Cowan, 1999).

- Tanins hydrolysables: Ces molécules, sensibles à l'hydrolyse chimique ou enzymatique, sont le résultat d'une estérification d'un glucide (généralement le glucose) avec l'acide gallique (dans le cas des tanins galliques) ou l'un de ses dérivés (dans le cas des tanins ellagiques)(Bruneton, 2009).
- Tanins condensés: Les tanins condensés résultent de la polymérisation de flavan-3-ols (tanins catéchiques) ou de flavan-3,4-diols (proanthocyanidines) (Bruneton, 2009).

II.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques montrent des activités biologiques intéressantes et bénéfiques pour la santé humaine liées à leurspropriétés antioxydantes et anti-radicalaires (**Kanneretal.,1994**). Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres oxygènés en particulier les radicaux peroxydes (ROO·), alkoxyles (RO·), superoxydes (O2·-) et les hydroxyles (·OH), générés en permanence par notre organisme (**Min et Ebeler, 2008**).

En raison de leur potentiel thérapeutique, ils suscitent un intérêt croissant dans la prévention et le traitement de cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et les maladiesinflammatoires. Cela est due à leurs propriétés antioxydantes(Macheix et al., 2005), antimicrobiennes, anticancéreuses(Bursal et al.,2013) et anti-inflammatoires(Boukhary et al.,2016). Ces composés offrent des perspectives prometteuses pour améliorer la santé humaine et sont donc l'objet d'études approfondies dans ces domaines(Weiguanget al., 2005).

III. Méthode d'extraction des composés phénoliques

III.1. Définition

L'extraction de principes actifs à partir de la matière végétale estgénéralementunprocessus extrêmement difficile en raison de la grande diversité des composés présents dans les échantillons naturels. Obtenir des rendements élevés peut être complexe, ce qui nécessite parfois une manipulation minutieuse afin d'éviter les modifications chimiques qui peuvent se produire lors de l'extraction en raison de l'activité enzymatique élevée des échantillons naturels(Antolovich et al., 2000).

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des polyphénols à partir des plantes :

III.2. Quelques méthodes d'extraction

III.2.1. Extractionpar macération

La macération est une technique ancestrale qui a été abondamment employée, notamment grâce à sa simplicité. Elle consiste à la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant et la durée d'extraction. Le processus se déroule en solubilisant les composés bioactifs, qui se déplacent de la matrice végétale vers le solvant environnant, jusqu'à ce qu'un équilibre de répartition des concentrations soit atteint(Handa, 2008).

III.2.2. Extraction assistée par ultrason (EAU)

• Définition

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons est une technique simple, efficace et peu couteuse qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice du solvant et d'énergie. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps soumise à l'action des ultrasons. Elle a été reconnue pour son application potentielle dans l'extraction des huiles essentielles, des protéines, des polyphénols, des anthocyanines, des saponines, des polysaccharides ainsi que dans la pasteurisation et la production de produits laitiers(Azmir et al., 2013).

• Principe

Lorsque les ondes sonores se propagent à travers une substance, elles provoquent des cycles d'expansion et de compression. Pendant cette propagation, l'expansion peut entraîner la formation de bulles qui se développent et se contractent dans un liquide. Près d'une surface solide, l'effondrement asymétrique de ces cavités produit un jet de liquide à grande vitesse, phénomène connu sous le nom de cavitation acoustique (Benamor, 2008). Les ultrasons altèrent la structure des parois cellulaires, entraînant la destruction des cellules, améliorant la diffusion des molécules (Bourgou et al., 2016). En d'autres termes, les effets mécaniques des ultrasons favorisent une meilleure pénétration du solvant dans les composants cellulaires et améliorent le transfert de matière. Par conséquent, la destruction cellulaire et le transfert

efficaces delamatière sont considérés comme deux facteurs clés contribuant aux performances optimales de l'extraction assistée par ultrasons (Ghitescu et al., 2015).

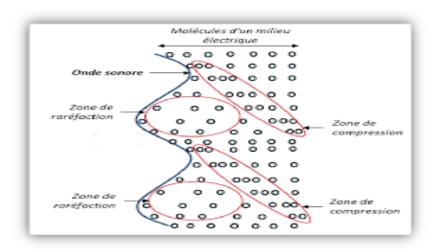


Figure 02 : Cycles de compression et raréfaction induits par les ondes sonores (site web).

• Paramètresinfluençant l'extraction assistée par ultrason

Pour améliorer l'extraction des composés phénoliques, il est essentiel de choisir le solvant approprié et de contrôler la température. De plus, l'optimisation des paramètres de l'extraction assistée par ultrasons, tels que la fréquence, la puissance, la durée d'extraction et la distribution des ondes ultrasonores, peut également augmenter le rendement d'extraction (Wang et Weller, 2006).

• Avantages de l'extraction assistée par ultrason

L'utilisation de l'extraction assistée par ultrasons présente plusieurs avantages, notamment une augmentation de la cinétique et du rendement d'extraction. Cette méthode permet également de réduire la température de fonctionnement, ce qui permet l'extraction des composés thermolabiles sans les dégrader. De plus, l'extraction assistée par ultrasons présente un coût plus faible en termes d'appareillage et plus facile à mettre en œuvre par rapport à d'autres techniques d'extraction plus récentes, telles que l'extraction assistée par micro-ondes (Chematet al., 2004).

III.3.Méthodologie des plans d'expériences

III.3.1. Définition

Un plan d'expérience est une méthode utilisée pour planifier ou organiser les expériences scientifiques et industrielles dans le but de retirer l'information correspondante à l'objectif fixé préalablement. Leur but est d'obtenir un maximum d'informations avec un

minimum d'expérimentations par rapport à l'objectif que l'on s'est fixé.Les plans d'expériences sont appliqués dans différents domaines des sciences : agronomie, biologie, calcul numérique, chimie, électronique, marketing, mécanique, physique. La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle d'espace expérimental et celle de modélisation mathématique des grandeurs étudiées(Lombarkia, 2012).

III.3.2. Principe de base des plans d'expériences

La technique des plans d'expériences consiste à faire varier simultanément les niveaux de un ou plusieurs facteurs (qui sont les variables, discrètes ou continues) à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse, c'est-à-dire une grandeur utilisée comme critère et en permettant de modéliser facilement les résultats. Le point délicat dans l'utilisation des plans d'expériences sera donc de minimiser le plus possible le nombre d'expériences à mener sans sacrifier la précision des résultats (Belghit, 2009).

III.3.3. Types de plans d'expériences

On distingue trois principales catégories de plans d'expériences : plans de mélange, plans de criblage et plans de modélisation (surfaces de réponses).

- Plans de mélanges: Ils sont principalement utilisés pour l'étude de l'influence des proportions des constituants d'un produit sur une réponse donnée (Boudjeniba, 2012).
- Plans de criblage :Ils sont utilisés pourdécouvrir les facteurs les plus influents sur une réponse donnée. Parmi les plans proposés : plans factoriels complets à deux niveaux, plans factoriels fractionnaires et plans de Plackett-Burman(Boudjeniba, 2012).
- **Méthode de surface de réponse**: Ces plans sont les plus employés car ils permettent le criblage des facteurs et conduisent parfois à des modélisations simples mais suffisantes. Lesplus importants plans de ce type sont: les plans composites, les plans de Box-Behnken et les plans de Doehlert (**Wahadame**, **2006**).

Les plans de Box-Behnken répondent à un critère d'optimisation particulier (**Behnken**, **1965**). La mise en œuvre des plans de Box-Behnken est simple car chaque facteur ne possède que trois niveaux : -1, 0 et +1, exprimés sous forme de variables codées. Les points expérimentaux sont situés au milieu des arêtes de chaque côté du

cube. Ce plan se compose de douze essais requis on peut ajouter un ou plusieurs pointscentraux(Lombarkia, 2012).

III.3.4. Principaux avantages des plans d'expériences

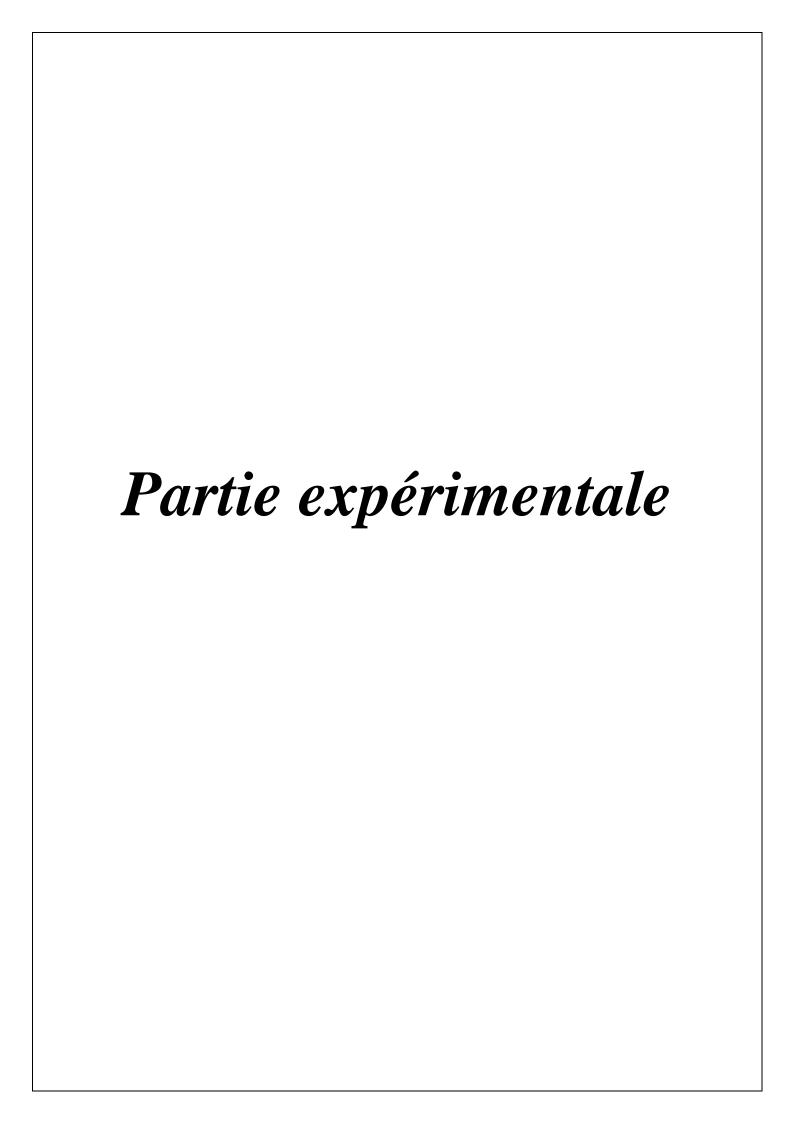
Les plans de Box-Behnken sont utilisés pour atteindre plusieurs objectifs dans le processus de développement de produits ou de services. Tout d'abord, ils visent à déterminer les valeurs optimales des paramètres de réglage afin d'obtenir une valeur souhaitée sur le produit ou le service à mettre au point. En réduisant le nombre d'essais nécessaires, ces plans permettent également de minimiser les dépenses associées aux expérimentations. De plus, ils permettent d'identifier les facteurs les plus influents et les éventuelles interactions entre ces facteurs, tout en déterminant le nombre minimal de points de mesure nécessaires pour obtenir un maximum d'informations. Grâce à la mesure des réponses, il devient possible d'établir des relations de cause à effet entre les réponses et les facteurs, permettant ainsi de visualiser l'évolution du processus. En résumé, les plans de Box-Behnken offrent une approche systématique pour optimiser les paramètres de réglage, minimiser les coûts, et comprendre les relations entre les facteurs et les réponses dans le cadre du développement de produits ou de services(Romdhane et Gourdon, 2002).

III.3.5. Logiciels de plans d'expériences

Les logiciels de plans d'expériences disposent de bibliothèques contenant des plans classiques, mais ils offrent également la possibilité de créer des plans spécifiques. On peut réaliser le calcul des coefficients avec un tableur, mais cela nécessite de la programmation et du temps. Il est donc préférable d'utiliser un logiciel adapté qui effectue non seulement le calcul des coefficients mais aussi les calculs statistiques permettant d'évaluer la qualité du modèle mathématique. Les logiciels des plans d'expériences sont aussi programmés pour calculer des réponses dans tous les domaines d'étude, pour effectuer les analyses de variance, pour tracer des courbes , pour construire les surfaces de réponses et pour déterminer les zones d'intérêt. Cet ensemble de possibilités permet d'effectuer de multiples analyses et de regarder ces données sous tous les angles. On arrive ainsi à extraire, en peu de temps, toute l'information présente dans les résultats d'un plan d'expériences (Goupy, 2006).

TableauIII: Les principaux logiciels de plans d'expériences et les sites internet correspondants (**Goupy**, 2006).

Logiciels	Sites des logiciels	
JMP	http://www.jmpdiscovery.com	
Minitab	http://www.minitab.com	
Statistica	http://www.intesoft.com/produits/tech/statistica	
Stagraphicshttp://www.sigmaplus.fr		
Unscramblerhttp://www.camo.no		
Pirouette http://www.infometrix.com		
Modde http://www.umetrics.com		



I.Matériel et Méthodes

I.1. Préparation du matériel végétal

La plante Salvia chuda ei Batt & Trab, a été récoltéeen février 2023 à la Wilaya de Tamanrasset. Après la récolte, le matériel végétal qui est constitué des parties aériennes de la plante, a été nettoyé des poussières et de toutes autres impuretés, puis séché à une température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière. Le matériel végétal séché a été broyé puis tamisé. Les fractions dont le diamètre est inférieur à 250 µm ont été retenues pour l'extraction.

I.2. Optimisation des conditions d'extraction

I.2.1. Etude préliminaire

Dans ce travail, une étude préliminaire a été réalisée afin d'étudier l'effet de la durée d'extraction, de la nature et de la concentration du solvant et du rapport solide/liquide sur la teneur en composés phénoliques et sur l'activité anti-radicalaire vis-à-vis du DPPH du*Salvia chudaei*, en utilisant la technique d'extraction assistée par ultrasons.

• Effet de la nature du solvant d'extraction

Afind'étudierl'effetde la nature du solvantd'extraction, lescomposésphénoliques totaux de *Salvia Chudaei* ontétéextraits enutilisantcommesolvant :l'eaudistillée, l'acétone50 % etl'éthanol50%.

Unequantité de0,2gdelapoudreaétémélangéeavec20mL dusolvant d'extraction. Après30min'extraction, les mélangesobtenusontétéfiltrés etutilisés pourle dosagedescomposés phénoliques et l'évaluationde l'activitéDPPH.

• Effet de la concentration du solvant d'extraction

Pour étudier l'effet de la concentration dusolvant, l'extraction a été réalisée en utilisant le solvant qui a donné le meilleur rendement encomposésphénoliques à différent es concentrations: 30%, 50%, 70% et 90%.

Une quantité de0,2g dela poudreaété mélangéeavec20mLdusolvantd'extraction. Après30 mind'extraction,les mélangesobtenus ont étéfiltrés et utilisés pour les dosages.

• Effet de la durée d'extraction

L'effetdeladuréed'extractionaété étudié en réalisant des extractions par ultrasons pendant : 10, 20, 30 et 40min,en mélangeant0,2g dela poudreavec20mLdusolvantqui adonné les meilleursrésultatsprécédemment.

• Effet du rapport solide-liquide

L'effetdu rapportsolide/liquideaété évalué en testant quatre rapport solide/liquide à savoirs : 0,2/20 ; 0,4/20 ; 0,6/20 et 0,8/20 (g/mL).

L'extractionaétéréaliséeensélectionnantles meilleuresconditionsdéterminées précédemment.Unequantitéde0,2;0,4;0,6 et 0,8gdelapoudreaétémélangéeavec20mL d'acétone(70%).Après 20min d'extraction,lesmélangesobtenus ont étéfiltrés etutilisés pour les dosages.

Les différents paramètres examinés dans l'étude préliminaire et les résultats qui ont donné le meilleur rendement en composés phénoliques totaux (CPT), sont résumé dans le tableau (IV).

Tableau (IV): Récapitulatif des paramètres testés lors de l'étude préliminaire et les conditions d'extraction optimales sélectionnées.

Paramètres testés	Paramètre sélectionné	
Nature du solvant : ED, Acétone50% et Ethanol 50%	Acétone 50%	
Concentration du solvant: Acétone30, 50, 70 et 90%	Acétone 70%	
Durée d'extraction : 10, 20, 30 et 40min.	20min	
Rapportsolide/liquide: 0,2/20; 0,4/20; 0,6/20 et 0,8/20 (g /mL)	0,2/20 (g/mL)	

Les résultats de cette étude préliminaire ont permis de sélectionner un intervalle approprié pour l'extraction des CPT pour chaque variable indépendante.

I.2.2.Application du plan d'expérience

L'optimisation de la méthode d'extraction a été réalisée en employant le plan de Box-Behenken de trois niveaux, pour évaluer l'effet combiné de trois variables indépendantes : la concentration du solvant (%), la durée (min), et le ratio solide/liquide (g/mL) qui sont désignés par X1, X2 et X3, respectivement.

L'étude préliminaire a été réalisée pour déterminer les valeurs minimales et maximales des variables qui influencent l'expérimentation. Ces derniers sont illustrés dans le tableau (V).

Tableau V: Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction assistée par ultrasons.

	Niveaux des facteurs		
Variables indépendantes	-1	0	+1
X1: Solvant (%)	50	70	90
X2: Temps (min)	10	20	30
X3 : Ratio Solide/liquide (g/mL)	0,1/20	0,2/20	0,4/20

L'étude préliminaire a été réalisée sur ces paramètres : la durée d'extraction, la nature et de la concentration du solvant et le rapport solide/liquide, afin d'optimiser les deux réponses : la teneur en composés phénoliques (TCP), et l'activité antioxydant évaluée par le test d'inhibition du radical DPPH.

La méthodologie des surfaces de réponses permet de modéliser les deux réponses étudiées sous forme d'une équation polynomiale du second degré présentée ci-dessous :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x^2 + \sum_{i>i}^k \beta_{ij} x_i x_j + E \dots \dots (Equation 1)$$

Où : y représente la réponse étudiée (dans notre cas, y représente la TCP et le pourcentage d'inhibition du radical DPPH); $\beta 0$ est un coefficient constant; βi , et βij sont des coefficients des limites linéaires, quadratiques et interactives, respectivement, et le xi et xj représentent les variables indépendantes codées et E représente l'erreur expérimentale.

I.3. Détermination de la teneur en antioxydants

I.3.1. Dosage des composés phénoliques

• Principe

Le principe de dosage des composés phénoliques est basé sur la réduction en milieu alcalin de l'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) du réactif de Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃), lors de l'oxydation des polyphénols. L'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

• Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de **Kähkonen et** *al.*(1999). Un volume de 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à 100 uL d'extrait. Après 3 minutes, 0,4 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Après 1 heure d'incubation, l'absorbance est mesurée à 740 nm. La concentration en composés phénoliques, exprimée en gramme équivalent de l'acide gallique (EAG) par 100 g de matière sèche, est déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (**Annexe 01**).

I.3.2. Dosage des flavonoïdes

• Principe

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres avec l'aluminium sous forme d'ions Al+3 après décomposition de chlorure d'aluminium (Alcl3). Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

• Mode opératoire

Les teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus sont déterminées par la méthode de Lamaison et Carnet, (1990). Une quantité de 0,5mLde chaque extrait a été ajouté à un volume égal du chlorure d'aluminium (2%). L'absorbance a été lue à 430nm après 20 min d'incubation. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent quercétine (EQ) par 100g de matière sèche à partir de la droite d'étalonnage (Annexe 02).

I.4. Evaluation de l'activité antioxydante

I.4.1. Activité « scavenger » du radical DPPH

Principe

Un antioxydant a la capacité de donner un hydrogène au radical synthétique DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) de coloration violette (forme oxydée) pour le réduire en DPPH-H (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazine) de coloration jaune-verte (**Molyneux, 2004**).

• Mode opératoire

L'effet « scavenger » du DPPH est déterminé par la méthode de **Kroyer et Hegedus**, (2001), 100 uL d'extrait sont ajoutés à 900 uL de DPPH (60 μM). Apres 1 heure d'incubationa l'obscurité, l'absorbance a été lue à 517 nm. L'activité « scavenger » du DPPH est exprimée en gramme équivalent acide ascorbique (EAA) par 100 grammes de matière sèche à partir de la droite d'étalonnage (**Annexe 03**). Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été estiméselon la formule suivante :

$$\% = [(A_{t \in moin} - A_{e \in hantillon})/A_{t \in moin}] \times 100$$

A témoin : Absorbance du témoin (DPPH).

A échantillon: Absorbance de l'extrait (extrait + DPPH).

La concentration d'extrait fournissant 50% d'activité antioxydante (valeur IC50 (mg/mL)) a été calculée à partir du graphique des pourcentages d'activité antioxydante par rapport aux différentes concentrations de l'extrait étudié.

I.4.2.Pouvoir réducteur du fer

• Principe

L'analyse du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe3+) du complexe ferricyanure-Fe3+ en fer ferreux (Fe2+), en présence d'antioxydants réducteurs(**Bijoy et al., 2008**). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle aupouvoir réducteur de l'extrait (**Gülçin et al., 2003**).

• Mode opératoire

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de **Yildirim et al.** (2001) ; 1 mL d'extrait est additionne à 2,5 mL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 mL de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 min, 2,5 mL d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange. Après centrifugation à 3000 g pendant 10

min, 2,5 mL du surnageant sont mélangés avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm, les résultats sont exprimés en gramme équivalent acide ascorbique (EAA) par 100 grammes de matière sèche à partir de la droite d'étalonnage (Annexe 04).

I.4.3. Pouvoirchélateur du fer ferreux

• Principe

Le pouvoir chélateur du fer est une méthode utilisé pour évaluer le pouvoir chélateur d'un extrait. La ferrozine réagit avec le fer libre présent dans un milieu réactionnel, formant ainsi un complexe Ferrozine-Fe2+ qui présente une intense couleur violette (**Zhao etal., 2010**). Lorsqu'un agent chélateur est présent, la formation de ce complexe est perturbée ce qui entraine une diminution de la couleur.

• Mode opératoire

La capacité chélatrice de l'extrait étudié a été estimée par la méthode de (**Dinis et al. 1994**). Un volume de 0,1 mL d'extrait a été ajouté à 2,75 mL d'eau distillée et 0,1 mL de chlorure ferreux (2 mM). Après agitation pendant 5min, 0,1mL de ferrozine (5 mM dans éthanol) sont additionnés au milieu réactionnel. Le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante. L'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 562 nm. Le pourcentage de la capacité chélatrice du fer est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A_{témoin} - A_{echantillon})/A_{témoin}] \times 100$$

A témoin: Absorbance du témoin.

A échantillon: Absorbance de l'extrait.

La concentration d'extrait fournissant 50% d'activité antioxydante (valeur IC50 (mg/mL)) a été calculée à partir du graphique des pourcentages d'activité antioxydante par rapport aux différentes concentrations de l'extrait étudié.

I.4.4.Activité « scavenger » du radical ABTS

• Principe

La méthode qui détermine l'activité « scavenger » du radical ABTS est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS⁺ (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleue verte en le transformant en ABTS-H⁺

incolore, par un don d'hydrogène (Antolovich et al., 2002). La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

• Mode opératoire

Le piégeage du radical cationique ABTS^{*+} est déterminé par la méthode de**Re et al.** (1999). La solution du radical cationique ABTS^{*+} a été préparée en mélangeant 2,45 mM d'ABTS avec 7 mM de persulfate de potassium. Apres 16 heures d'incubation la solution ABTS^{*+} a été diluée avec l'éthanol, afin d'obtenir une absorbance de 0,7± 0,02 à 734 nm. L'absorbance a été lue à 734 nm après 6 min d'incubation à l'obscurité. Le pourcentage de l'activité « scavenger » du radical ABTS^{*+} est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A_{t \in moin} - A_{e \in hantillon})/A_{t \in moin}] \times 100$$

A témoin : Absorbance du témoin (ABTS⁺).

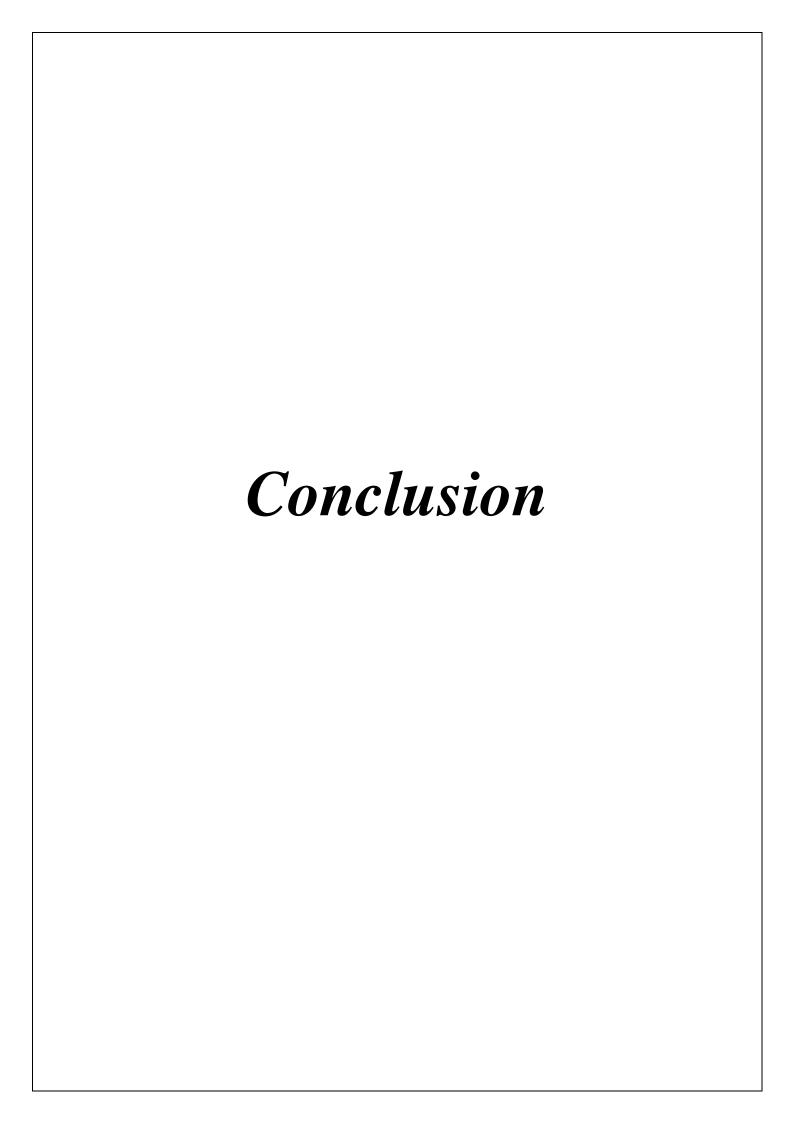
A échantillon: Absorbance de l'extrait (extrait + ABTS^{•+}).

La concentration d'extrait fournissant 50% d'activité antioxydante (valeur IC50 (mg/mL)) a été calculée à partir du graphique des pourcentages d'activité antioxydante par rapport aux différentes concentrations de l'extrait étudié.

I.5. Etude statistique

L'analyse statistique des résultats a été effectuée avec l'application ANOVA univariée (test Tukey-Kramer,logiciel JMP7) et la comparaison des résultats est prise à la probabilité P<0,05. Toutes les données représentent la moyenne de trois essais ± écart type.

Le logiciel JMP (Version 14, SAS) est utilisé pour construire le plan d'expérience de Box-Behnken pour l'analyse de tous les résultats.



Conclusion

Cette étude a été consacrée à la détermination de l'effet de quelques paramètres d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante du *salviachudaei*, ainsi que leur optimisation en utilisant le modèle de plan d'expérience de Box-Behnken.

Le plan Box-Behnken a été mis en place pour étudier l'effet de trois variables indépendantes, à savoir : la concentration du solvant(%), le temps (min) et le rapport solide/liquide (g/mL), sur l'extraction des composés phénoliques totaux, afin de définir un modèle mathématique permettant l'optimisation des conditions d'extraction. Une étude préliminaire a été réalisée afin de définir les niveaux hauts et bas pour chaque facteur.

Les résultats de l'étude préliminaire révèlent que l'acétone 70%, la durée de 20 min et le rapport 0,2/20 (g/mL) sont les meilleurs paramètres pour l'extraction des polyphénols totaux de *salviachudaei*.

L'utilisation du plan Box-Behnken a permis d'identifier les meilleurs paramètres d'extraction qui sont : une durée de 30 min, une concentration du solvant de 80% et un rapport solide/liquide de 0,1/20 g/mL.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait obtenu avec les conditions optimales a une teneur en CP de18, 49 mg EAG/g et en flavonoïdes de 2,85 mg EQ/g et une activité anti-radicalaire (DPPH) de 1,89 mg EAA/g MS

L'analyse des pourcentages des activités antioxydantes exercée par l'extrait étudié, a révélé que la plus importante activité testée est l'activité « scavenger » du radical DPPH suivie par celle du radical ABTS. Tandis que la plus faible activité est l'activité chélatrice du fer.

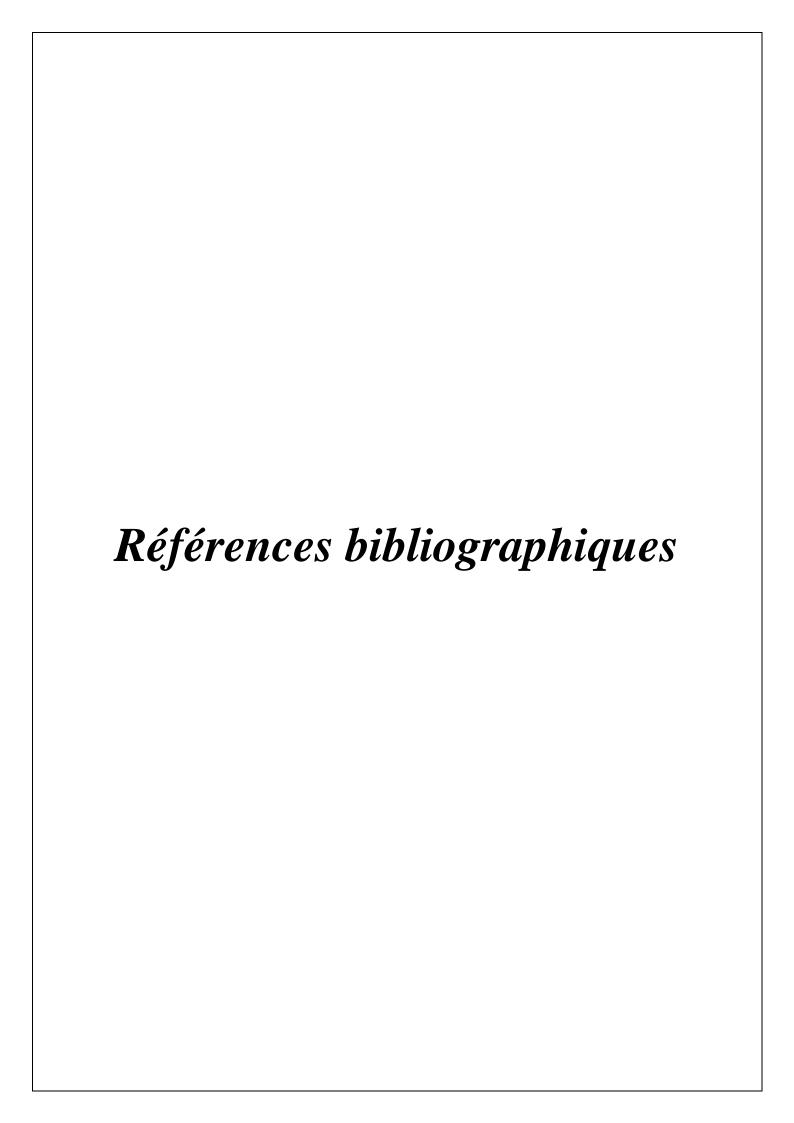
Les résultats des IC50 indiquent que le plus faible IC50 est celui de l'activité DPPH, alors que le plus élevé IC50 a été trouvé avec l'activité chélatrice du fer suivi par celui del'ABTS. Ces résultats indiquent que l'extrait obtenu est plus efficace sur le radical DPPH quesur le radical ABTS et le fer.

L'ensemble de ces résultats indique que l'extrait de Salvia chudaei obtenu avec les conditions optimales a la capacité d'exercer une activité anti-radicalaire vis à vis du DPPH et

l'ABTS, une activité réductrice du fer et une activité chélatrice du fer. Ceci indique que l'extrait étudié a exercé une importante activité antioxydante via plusieurs mécanismes.

Dans le but d'élargir cette recherche et d'approfondir les travaux déjà entrepris, plusieurs travaux peuvent être explorées :

- > Etudier d'autres techniques d'extractions telles que l'extraction par microondes.
- ➤ Optimiser d'autres paramètres qui affectent le taux d'extraction des composés phénoliques, tels que ; la température, le pH, la granulométrie de la poudre...etc.
- ➤ Utiliser d'autres plans de la surface de réponse (Plans composites, Doehlert...).
- > Caractériser des différents composés phénoliques de la plante.



Références bibliographiques

A

Al-farsi,Li M, **Lee, Chang Y**. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food chemistry* 2008;108: 977-985.

Al-Jaber H I, Al-Qudah M A, Barhoumi L M, Abaza I F, Afifi F U.Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried Salvia palaestina Benth. (Lamiaceae) growing wild in Jordan. *Natural Product Research* 2012; 26:1179–1187.

Amiri S, Shakeri A, Sohrabi M R, Khalajzadeh S, Ghasemi E. Optimization of Ultrasonic Assisted Extraction of Fatty Acids from Aesculus Hippocastanum Fruit By Response Surface Methodology. *Food Chemistry* 2019;271:762-766.

Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, &Robard K. Methods for testing antioxidant activity . *Analyste* 2002;127:183-198.

Assefa A T.Extraction and characterization of antioxidant from orange peels. Thése de doctorat:faculté de technologie . Université ADDIS ABABA (Ethiopia) ;2016,147p.

Azmir J, Zaidul I S M, Rahman M M, Sharif K M, Mohamed A, Sahena F, Jahurul M H A, Ghafoor K, Norulaini N A N, Omar A K M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials. *Journal of Food Engineering* 2013;117:427-428.

В

Bachir Bey M. Étude de l'effet du séchage sur les caractéristiques physicochimiques, les propriétés antioxydantes et les profils phénoliques de variétés de figues (Ficus carica L). Thèse de doctorat : Université Abderrahmane Mira, Bejaïa, Algérie ;2015,130p.

Baharfar R, Tajbakhsh M, Azimi R, Khalilzadeh M A, Eslami B. Chemical constituents of essential oils from the leaves, stems and aerial parts of Salvia virgata Jacq. *from Iran. J. Essential Oil Research* 2009;21:448–450.

Behnken D W, Box G E P. Some new three level designs for the study of quantitative variables. *Technometrics* 1960; 2:455 - 475.

Belghit C.Etude par simulations numériques de la réactivité dans la réaction d'acylation enzymatique de substrats osidiques. Thèse de doctorat : faculté des sciences exacte .Université Badji Mokhtar-Annaba.Algerie ;2009,166p.

Benamor B. Maitrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétale dans les opérations d'Extraction de Principes Actifs; Texturation par Détente Instantanée Contrôlée dic. Thèse de Doctorat :Faculté génie des procédés industriels. Université de La Rochelle.France ;2008,208p.

Benarima A.Optimisation des conditions ultrasoniques d'extraction des composés phénoliques de Moringa Oleifera et leur activité antioxydante. Thése de doctorat : faculté de la technologie université de d'El Oued. Algérie; 2021, 107p.

Benchikh Y, Louailèche H. Effects of extraction conditions on the recovery of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of carob (Ceratonia siliqua L.) pulp. *Acta BotanicaGallica: Botany Letters* 2014;161:175-181.

Benhammou N. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat : faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers. Université Aboubakr Belkaïd. Tlemcen; 2011, 174 p.

Beta T, Nam S, Dexter J, Sapirstein H. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chemistry* 2005;82:390-393.

Bijoy M, Jayati S, Prabir KS. Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus fermentation to kinema. *Food Research International* 2008; 41:586-593.

Bilgin M, Sahin S. Effects of geographical origin and extraction methods on total phenolic yield of olive tree (Olea europaea) leaves. *Taiwan Institute of Chemical Engineers*2013; 44:8–12.

Bouayed J, Rammal H, Younnos C N , Soulimani R. Positive correlationbetween granulocyte oxidativestatus and level of anxiety in mice. *European Journal of Pharmacology* 2007;564:146-149.

Boubekri C. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat : Faculté des science exactes, des sciences de nature et de la vie. Université Biskra. Algérie ;2014,210p.

Boudjniba B. Etude par simulations numériques de la réactivité dans la réaction d'acylation enzymatique de substrats osidiques). Thèse de doctorat : Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie ;2012,166p.

Boukhalfa D. Contribution à l'étude des plantes aromatiques et médicinales de la région de l'Ahaggar. Thèse de doctorat : Sciences médicales. Université Benyoucef

Benkhedda d'Alger centre. Algérie;2017,322p.

Boukhary R, Raafat K, Ghoneim AI, Aboul-Ela M, El-Lakany A. Anti-inflammatory and antioxidant activities of Salvia fruticosa: An HPLC determination of phenolic contents. *Based Complementary and Alternative Medicine* 2016;1:1-6.

Bourgou S, Serairi B, Medni F, Ksouri R. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbiahelioscopia. *Journal of new sciences* 2016 ; 28 :1649-1655.

Bouthaina BEN A.Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée(dic). Thèse de doctorat : Faculté génie des procédés industriels. Université de la Rochelle. France ;2008,208p.

Bouzar R. *Salvia chudaei* Batt. et Trab. du Hoggar : Étude phytochimique préliminaire. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université aboubekr belkaîd. Tlemcen ;2019,127p.

Bruneton J. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. Paris :2ème édition. Technique et documentation Lavoisier, 1993 :915.

Bruneton J.Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris : 3ème édition. Technique et Documentation Lavoisier, 1999:915.

Bruneton J.Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris: Technique et documentation Lavoisier, 2009:1289.

Bursal E, Köksal E, Gülçin I,Bilsel G, Gören AC. Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (Cerasus avium L.) determined by LC-MS/MS. *Food research international* 2013; 51: 66–74.

 \mathbf{C}

Chaalal M, Touati N, Louaileche H. Extraction of phenoliccompounds and in vitro antioxidantcapacity of pricklypearseeds. *Acta Botanica Gallic* 2012;159:467–475.

Chan S W, Lee C Y, Yap C F, Aida W W, Ho C W. Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (Citrus hystrix) peels. *International food research journal* 2009;16:203-213.

Chavan U D, Shahidi F, Naczk M. Extraction of condensed tannins from beach pea (Lathyrus maritimus L) as affected by different solvents. *Food Chemistry* 2001;75:509–512.

Chemat S, Lagha A, Hamid A, Paul V B, Farid C. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour and Fragrance Journal* 2004; 19: 188-195.

Chew K K, Khoo M Z, Ng S Y, Thoo Y Y, Aida W W, Ho C W. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of Orthosiphon stamineus extracts. *International Food Research Journal* 2011;18:571-578.

Chira K, Suh J H, Saucier C, Teissedre P L. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* 2008;6:75-82.

Cowan, M. M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 1999;12: 564-582.

 \mathbf{D}

Dia O.Optimisation de l'extraction des polyphénols des (Phoenix dactylifera) par différents solvants et méthodes. Thèse de doctorat : Faculté des sciences appliquée.Université Kasdi Merbah Ouargla .Algérie ;2019,155p.

Dinis TC, Madeira VM, Almeida LM. Action of phenolic derivate (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives Biochemistry and Biophysics* 1994; 315: 161-169

 \mathbf{E}

El-Adawi H, Abdel-Fattah Y, El-Wahab A A. Application of numerical modeling for optimization of selective hot water extraction of taxifolin from 'milk thistle'seeds. *African Journal of Biotechnology* 2011;10:9804-9811.

Eskilsson, C. S., Björklund, E., Mathiasson, L., Karlsson, L., & Torstensson, A..Microwave-assisted extraction of felodipine tablets. *Journal of Chromatography A* 1999; 840: 59-70.

Galvez C J, Martin-Cordero P, Houghton A M. Antioxidant Activity of methanol extracts obtained from Plantago species J Agric. *Food Chemistry* 2005;53:1927–1933.

GeeJ M, Johnson I.T. Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry* 2001;8:1-182.

Gert F, Stephan M. Metabolit engineering and applications of flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology* 2001;12:155-160.

Ghafoor K, Choi Y H.Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape peel through response surface methodology. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 2009; 52:295–300.

Ghitscu R E, Volf I, Carausu C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrasonics sonochemistry* 2015; 22:535-541.

Goupy J. Modélisation par les plans d'expériences, Techniques de l'ingénieur, mesures et contrôles. *La revue modulad* 2006 ; 275 : 1-23.

Gülçin İ, Oktay M, Kirreçci E, Küfrevioglu ÖI. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinelleanisum L). Seed extracts. *Food Chemistry* 2003; 83: 371-382.

GÜLÇIN İ. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology* 2006; 217: 213-220.

H

Hammiche V, Maiza K. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal d'ethnopharmacol* 2006; 105: 358–367.

Hammoudi R. Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de doctorat :Biologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.Université d'Ouargla. Algérie;2015,166p.

Handa S S. An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. Triest : Edition International Centre for Science and High Technology (ICSUNIDO). Trieste,2008 :54.

Hagerman A E, Rield K M,Alexander G, Sovik K N,Ritchard N T,Hartzfeld P W,Riechel T L. High molecular weight plant phenolics (tanins) as biological antioxidants. *Agricultural and food chemistry* 1998;46:1887-1892.

Haslam, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Natural Product* 1996; 59: 205-215.

Hirasa K., Takemasa M. Spice science and technology. New York: EditingMarcel Dekker, 1998:232.

K

Kabran G R, Mamyrbekova-Bekro J A, Pirat J L, Bekro Y A, Sommerer N, Verbaere A, Meudec E. Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne. *Société Ouest-Africaine de Chimie* 2014;38:57-63.

Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, &Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry* 1999; 47: 3954-3962.

Kamatou G P P, Makunga N P, Ramogola W P N, Viljoen A M .South African Salvia species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal ethnopharmacol* 2008; 119: 664–672.

Kanner J, Frankel E, Granit R, German B, Kinsella J E. Natural antioxidants in grapes and wines. *Agricultural and food chemistry* 1994;42:64-69.

Kroyer G, Hegedus N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2001;2:171-174.

 \mathbf{L}

Lien D T P, Tram P T B, Toan H T. Effects of extraction process on phenolic content and antioxidant activity of soybean. *Food and Nutritional Science* 2015;3:33-38.

Lombarkia R. Etude simulation et expérimentation du comportement mécanique des couvercles des boites d'emballage -métalliques pour produits chimiques. Thèse de doctorat : Faculté de génies mécanique. Université de Batna 2 - Mustafa Ben Boulaid.Batna ;2012,170p.

Luthria DL. Optimization of extraction of phenolic acids from a vegetable waste product using a pressurized liquid extractor. *Journal of Functional Foods* 2012; 4: 842–850.

Lu Y, Yeap L, Foo. Polyphenolics of Salvia. *Phytochemistry* 2002;59:117–140.

Lamaison JLC, Carnet A. Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegeusmonogyna*Jacq et de *Crataegeuslaevigata*(Poiret D.C) en fonction de la végétation. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 1990; 65:315–320.

\mathbf{M}

Macheix J. Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle. *Acta Botanica Gallica* 1996;143:473-479.

Macheix J J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse: Presses polytechniques et universitaires romandes, 2005:192.

Machiex J J,Fleuriet A, Sarni-Manchando P.Composés phénoliques dans les plantes. Structure ; biosynthése, répartition et rôles . In : Sarni-Manchando P, cheynier V, ed. Technique et documentation. Les polyphénols en agroalimentaire. Paris : Lavoisier 2006:390-399.

Maiza K. Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara algérien. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université d'Alger. Algérie ;2008,408p.

Miguel G, Cruz C, Faleiro M L, Simões A C, Figueiredo J G, Barroso, Pedro L G. Salvia officinalis L. essential oils: effect of hydrodistillation time on the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. Natural Product Research 2011;25:526–541.

Min K, Ebeler SE. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology* 2008;46:96–10.

Mokrani A, Madani K. Effect of Solvent, Time and Temperature on the Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Peach (Prunus Persica L.) Fruit. *Separation and Purification Technology* 2016;162:68-76.

Molyneux P.The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Of Science And Technology* 2004; 26: 211-219.

N

Naczk M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography* A2004;1054:95-111.

0

Ozanda P. Flore du Sahara septentrional et central. Paris : Edition *Centre national de la recherche scientifique*, 1958:486.

Ozenda P. Flore du Sahara. Paris : Edition *Centre national de la recherche scientifique*, 1977:595.

P

Perry NS, Bollen C0, Perry EK, Ballard C. *Salvia* for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2003;75:651-659.

Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sineiro J, Núñez M J.Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005;53: 2111–2117.

Pingret D, Fabiano-TixierA S, Bourvellec C, Renard C M G C, Chemat F.Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. *Journal of Food Engineering* 2012;111:73–81.

Pradal D. Eco- procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire. Thése de Doctort : Villeneuve d'Ascot. Nord. France ;2016,145p.

Q

QUEZEL P., SANTA S. Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales. Paris : Edition *Centre national de la recherche scientifique*, 1963:601.

R

Ramdane F, Mahammed H, Hadj D, Chanai A, Hammoudi R, Hillali N, Bahaz C. Ethnobotanical study of some medicinal plants from Hoggar, Algeria. *Medicinal plants research* 2015;9: 820-827.

Raskin I, Ribnicky D M, Komarnytsky S, Ilic N, Poulev A, Borisjuk N, Brinker

A, Moreno DA, Ripoll C, Yakoby N, O'Neal J M, Cornwell T, Pastor I, Fridlender B. Plants and human health in the twenty first century. *Trends in Biotechnology* 2002;20:522-531.

Re R, pellegrini N, proteggrente A, Pannala A, Yang M. & Rice-Evans. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Freeradical bio Med* 1999;26:1231-1237.

Ribéreau-Gayon P. Notions générales sur les composés phénoliques.In : « Lescomposés phénoliques des végétaux ». Edition Dunod, 1968 :1–27.

Ribéreau-Gayon, P. Notions générales sur les composés phénoliques, méthodes générales d'études des composés phénoliques. In :« Composés phénoliques desvégétaux ».Paris : Ed. Dunod, 1982 :173–201.

Romdhane M, Gourdon C. Investigation in solid-liquid extraction: Influence of ultrasound. *Chemical Engineering Journal* 2002;87: 11-19.

Rustaiyan A, Jamzad M, Larijani K, Masoudi S, Jamzad Z. Composition of the essential oil of Salvia compressa Vent and Cyclotrichium leucotrichum (Stapf.ex Rech.f.) Leblebici from Iran. *Essential Oil Research* 2009;2:222–224.

Ryan D, Antolivich M, Rebards K, Lavee. Biotransormations of phenolic coumpounds. *Scientia Horticulturae* 2002;92:147-176.

S

Saidi I. Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbés : Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat : Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université de Sidi Bel Abbés.Algérie ;2019,188p.

Silva S S, Justi M, Chagnoleau J B, Papaiconomou N, Fernandez X, Santos S A O, Passos H, Ferreira A M, Coutinho J A P. Using Biobased Solvents For The Extraction Of Phenolic Compounds From Kiwifruit Industry Waste. *Separation and Purification Technology* 2022; 304:122-344.

Sripad G, Rrakash V, Narasinga Rao M S. Extractability of polyphenols of Sunflower seed in various solvents. *Journal of Biosciences* 1982;4:145-152.

 \mathbf{T}

Tajnuba S, Neaj A, Abul H, Hosain M, Shakti Chandra M, Haque R, Almas M, &Siddik A B. Extraction of Bioactive Compound from Some Fruits and Vegetables (Pomegranate Peel, Carrot and Tomato) American *Journal of Food and Nutrition* 2016;4:8-19.

TEPE, Bektas, DAFERERA, Dimitra, SOKMEN, Atalay. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of Salvia tomentosa Miller (Lamiaceae). *Food chemistry* 2005; 90:333-340.

Tlili M, Hmmoudi M, Hadj-Mahamad M. In vivo and in vitro natidiabetic properties of alkaloids extract from salvia chudaei. *Acta Periodica Technologica* 2021;52:1-273.

Turkmen, Nihal, SARI, Ferda, VELIOGLU, Sedat Y. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food chemistry* 2006;99:835-841.

 \mathbf{V}

Valente M J, Baltazar A F, Henrique R, Estevinho L, CarvalhoM. Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-inducederythrocyte damage and inhibition of humanrenal cancer cellgrowth in vitro. *Food and Chemical Toxicology* 2010;49:86–92.

Vega-Arroy D J, Ruiz-Espinosa H, Luna-Guevara J J, Luna-Guevara M L, Hernandez-Carranza P, Avila-Sosa R, Ochoa-Velasco C E. Effect of solvents and extraction methods on total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity of Renealmia alpinia (Rottb.) Maas peel. *Czech Journal of Food Sciences* 2017;35:456-465.

W

Wahadame B. Analyse et optimisation du fonctionnement de plies à combustible par la méthode des plans d'expériences. Thèse de doctorat .Faculté sciences pour l'ingénieur. Université Franche-Comté .France ;2006,239p.

Wang L, Weller C L.Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology* 2006;17:300-312.

Weiguang Y, JoanF, Casimir CA. Study of anticancer activities of muscadine grape phenolics in vitro. *Agricultural and food chemistry* 2005;53:8804–8812.

 \mathbf{X}

Xia E Q, Deng G F, Guo Y J, Li H B. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences* 2011;11:622 -646.

Y

Yildirim A, Oktay M, Bilaloglu V. The antioxidant activity of the leaves of Cydonia vulgaris. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2001;31:23-27.

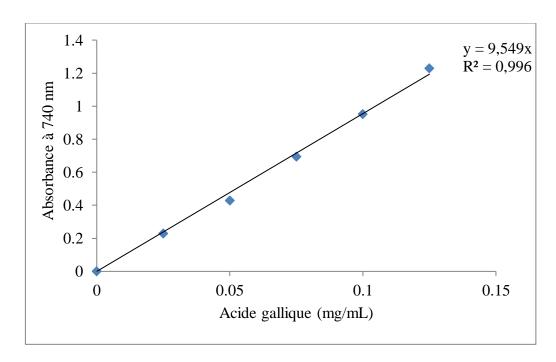
 \mathbf{Z}

Zhao S, Zhao X, Su H, Liu X, Suo X. Development of MTT assay for the detection of peripheral blood T cell proliferation of swine. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine* 2010; 37:35-38.

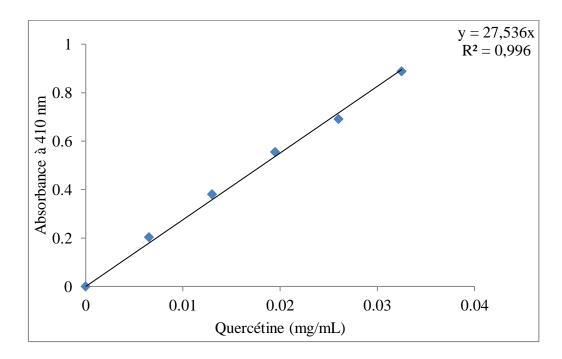
Zhou K, Yu L. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *Lebennsmittel-Wissenschaft und-Technologie* 2004;37:717–721.

Site web

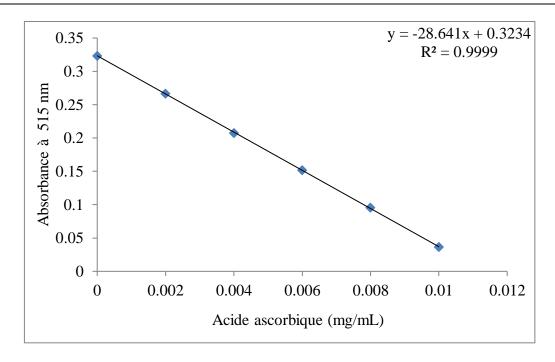
Universite-paris-saclay.Cycles de compression et raréfaction induits par les ondes sonores[en ligne]. Page consulter le 20/04/2022.Site web : http://www.cvc.universite-paris-saclay.fr/



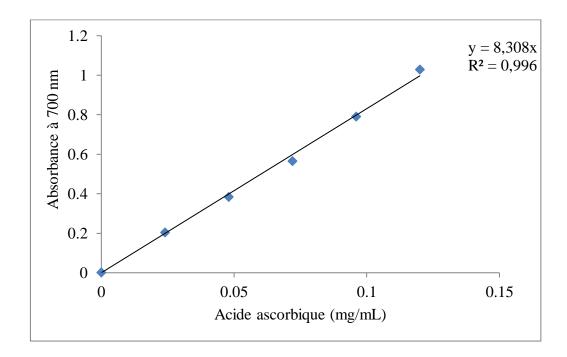
Annexe 01 : Droite d'étalonnage des composés phénoliques.



Annexe 02 : Droite d'étalonnage des flavonoïdes.



Annexe 03 :Droite d'étalonnage de l'activité « scavenger » du radical DPPH.



Annexe 04 :Droite d'étalonnage du pouvoir réducteur.

Résumé

Dans ce travail une extraction assistée par ultrasons est effectuée pour extraire les polyphénols totaux et déterminer la capacité antioxydante d'une plante saharienne, *Salvia chudaei*. Différents paramètres d'extraction ont été étudiés, tels que le solvant et sa concentration, la durée d'extraction et le rapport solide/liquide. Une étude préliminaire a identifié les meilleurs paramètres qui sont l'acétone comme solvant d'extraction, une concentration de 70%,durée d'extraction de 30min et un ratio solide/liquide de 0.2g/20mL, tandis qu'une analyse par le plan d'expérience Box-Behnken a permis d'obtenir les conditions optimales (80%, 30 minutes et 0,1 g/20 mL). Ces conditions ont conduit à un rendement plus élevé en composés phénoliques (18,49 mg EAG/g) et en flavonoïdes (2,85 mg EQ/g), ainsi qu'à une capacité réductrice du fer de 21,75 mg EAA/g MS. L'activité anti-radicalaire du radical DPPH a été supérieure à celle du radical ABTS, et la capacité de chélation du fer ferreux après avoir calculer leur IC50.

Mots clés: Ultrasons, *Salvia chudaei*, antioxydant, polyphénols, flavonoïdes, extraction.

Abstract

In this work, ultrasound-assisted extraction is performed to extract total polyphenols and determine the antioxidant capacity of a Saharan plant, *Salvia chudaei*. Various extraction parameters were studied, such as the solvent and its concentration, extraction duration, and solid/liquid ratio. A preliminary study identified the best parameters, which were acetone as the extraction solvent with a concentration of 70%, extraction duration of 30 minutes, and a solid/liquid ratio of 0.2g/20mL. Furthermore, a Box-Behnken experimental design analysis yielded the optimal conditions (80%, 30 minutes, and 0.1g/20mL). These conditions resulted in a higher yield of phenolic compounds (18.49 mg GAE/g) and flavonoids (2.85 mg QE/g), as well as a ferrous ion-chelating capacity of 21.75 mg EAA/g MS. The anti-radical activity against the DPPH radical was higher than that against the ABTS radical, and their IC50 values were calculated after evaluating their ferrous ion-chelating capacity.

Key words: Ultrasound, *Salvia chudaei*, antioxidant ,polyphenols, flavonoids, extraction.

الملخص

في هذا العمل,تم إجراء الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية لاستخراج البوليفينول الكلي و تحديد القدرة المضادة للأكسدة لنبات صحراوي سالفيا شوداي تمت دراسة معاملات الاستخلاص المختلفة مثل المذيب وتركيزه ومدة الاستخلاص و نسبة المادة الصلبة/السائلة. حددت دراسة أولية أفضل المعاملات و هي الأسيتون كمذيب بتركيز 70 % و مدة استخلاص 30دقيقة ونسبة صلبة/سائلة 0.2مج/20لمل EAGلملى التصميم التجريبي لعلاوة على ذلك Box-Behnken عن الظروف المثلى (80٪، 30 دقيقة ، و 0.1 جم / 20 مل) أدت هذه الظروف في زيادة مردود المركبات الفينولية (18.49 مج EAG/مج و الفلافونويدات (2.85) ج Py /ج). بالإضافة إلى قدرة معتبرة للايونات الحديدية (مج 21.75 EAA/ج) . بعد حساب قيم 1C50 تم استخلاص أن تقنية الايونات الحديدية و تقنية حالية في تثبيط الجذور مقارنة مع تقنية الايونات الحديدية و تقنية حمله.