

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé

**Impact de la microencapsulation dans des cellules
de levure sur la teneur en composés phénoliques et
l'activité antioxydante de *Pulicaria odora***

Présenté Par : -Boulkessaim Kaoutar

-Boulahdjel Wiam

-Kamel Rihab

-Chikh touami Khouloud

Membre de Jury :

Pr. Boucetta, S	M.C.A. Professeur présidesnt	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Laib imen	M.C.A Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Krouma, H	Professeur président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu Tout-Puissant, qui nous a donné la force, le courage, la volonté, la patience et les moyens nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice, **Dr. Laib Imen**, pour sa confiance, sa disponibilité, son accompagnement constant, sa compréhension et ses conseils précieux qui ont grandement contribué à la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier chaleureusement les membres du jury, en particulier **Pr. Boucetta Sabine**, qui nous a fait l'honneur de présider cette soutenance, ainsi que **Dr. Krouma H**, pour avoir accepté d'examiner notre travail avec attention et bienveillance.

Nos remerciements s'adressent également à tous les membres du laboratoire pour le temps qu'ils nous ont consacré, leur soutien et leur assistance tout au long de nos travaux pratiques.

Nous exprimons notre grande considération et notre profond respect à l'ensemble des enseignants de la promotion **Master 2024–2025**, en témoignage de notre sincère reconnaissance pour la qualité de leur enseignement et leur engagement tout au long de notre formation.

Enfin, nous adressons nos remerciements à toutes les personnes qui, de près ou de loin, directement ou indirectement, ont contribué à la réalisation de cette étude.

Dédicace

Louange à Dieu, le Très-Miséricordieux, le Très-Sage, Celui qui m'a accordé la force, la patience et la guidance pour mener à bien ce travail. Qu'Il soit remercié pour Ses innombrables bienfaits, visibles et invisibles, et pour m'avoir permis d'arriver jusqu'ici.

À mes chers parents, **Moustapha** et **Djamila**, les racines de mon existence, mes premiers soutiens, mon refuge dans les tempêtes.

Merci pour vos efforts inlassables, votre amour pur, votre soutien matériel et moral à chaque étape de ma vie.

Je prie Dieu de vous accorder une santé parfaite, une longue vie pleine de sérénité et de joie, qu'Il réalise tous vos rêves et vous garde toujours à mes côtés comme mon roc éternel.

À ma sœur bien-aimée **Hadjar**, mon épaule, mon âme sœur, celle qui m'a toujours portée avec douceur et force. Tu es mon soutien moral le plus fidèle, ma source de courage et de réconfort.

À mes frères, **Yasser** et **Kheiredine**, vous êtes pour moi des symboles d'apaisement, de force et de bonheur que Dieu vous accorde succès, paix intérieure et une vie pleine d'épanouissement.

À **Selma**, mon amie de cœur, une sœur choisie par le destin, toujours présente pour m'écouter, me soutenir et me comprendre. Ton amitié est un trésor inestimable dans ma vie.

À **Wiam**, ma précieuse amie rencontrée sur les bancs de l'université, avec qui j'ai partagé rires, doutes, épreuves et moments inoubliables. Tu as été une lumière dans ce parcours, une véritable amie sur laquelle j'ai toujours pu compter.

Enfin, je remercie du fond du cœur tous ceux qui m'ont soutenue, de près ou de loin : mes proches, mes camarades, mes amis et mes enseignants. Chacun, à sa manière, a contribué à mon parcours et à la personne que je suis aujourd'hui.

Boukhessaim kaoutar

Dédicace

Du profond de mon cœur je dédie ce travail : Avant tout je remercie **ALLAH** le très haut de nous avoir donné la force, la volonté et la patience de suivre nos études, réaliser et d'achever ce modeste travail. J'ai traversé des moments très difficiles, mais j'ai toujours trouvé en moi la force de continuer. Merci à moi pour ces cinq années de persévérance. A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui : Particulièrement : A ma très chère mère « **Nora** » La bougie de ma vie, la source d'amour, la chandelle qui m'a allumé le chemin vers la réussite, qui m'a toujours guidée avec ses précieux conseils, ma source de force qui m'a encouragé a allez de l'avant, quoi que je fasse ou que je dis, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Merci pour tout ce que vous m'avez donné depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. A mon très cher papa « **Foudil** » L'épaule solide, l'œil compréhensif et la personne le plus digne et mon estime de mon respect. Tous les jours, vous était là pour me protéger, m'éduquer, me guider, je veux vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi et pour votre présence à mes côtés qui a toujours été me soutenir et m'encourager Mes chers parents, aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude pour vos sacrifices. Que Dieu vous accorde santé et longue vie A mes chères sœurs, ma source de joie et de bonheur : **Abir, Randa** et **Djenane** Vous avez toujours cherché mon plaisir et mon sourire, je vous souhaite un avenir radieux plein de réussite. Que Dieu les protège À mon bras droit, mon compagnon de vie, mes chers frères **Naser Edin, Abdeldjalil** et **Nazim** : merci d'être toujours là pour moi. Que Dieu vous garde. Je dédie ce travail à ma grand-mère « **Zouhra** » notre source de bonheur, que dieu te garde pour nous. Toute ma famille chacun son nom ; je vous aime tous À mes précieuses amies **Nada, Amel, Fatima, kaoutar** et **Ikram**, merci pour les beaux moments partagés. Que notre amitié dure et que Dieu nous comble de bonheur.

Boulahdjel wiam

Dédicace

À mes chers parents, mon père **Nour Eddine** et ma mère **Leïla**, Vous êtes la lumière qui a illuminé mon chemin, le soutien qui m'a accompagné à chaque pas. Je vous dédie cette réussite, fruit de vos efforts et de vos grands sacrifices. Et tout particulièrement à toi, ma chère maman, Toi qui as été mon appui après Dieu, toujours présente avec ton cœur tendre et tes prières sincères.

Ce succès est le fruit de ta fatigue et de ton dévouement. Chaque pas dans mon parcours a été guidé par ta lumière et ton inspiration. Et à celui qui a été mon pilier et mon compagnon à chaque étape de ma vie, mon cher frère **Imad**, Qui ne m'a jamais privé de son soutien et de ses encouragements, et qui a toujours été à mes côtés... Merci à toi du fond du cœur.

Je souhaite exprimer ma gratitude envers ma sœurs **Hadil**, mon frère **Mohamed** et **Abd Eldjalil** pour leur soutien.

Kamel rihab

Dédicace

Je dédie le fruit de mes efforts à celle qui m'a portée, protégée et donné la vie, à celle qui m'a entourée de sa tendresse, ma chère mère, qui m'a accompagnée avec patience et dévouement dans mon parcours éducatif, et qui a tant sacrifié pour ma réussite.

À mon cher père, qui m'a soutenue dans ma vie scolaire et m'a appris, avec sagesse et patience, à gravir les marches de la vie.

À ma famille, qui ne m'a jamais privée de ses prières et de son soutien. À mon frère **AYMEN**, à mes sœurs **IMÈNE** et **LILIA**, et à ma petite sœur **HANINE**.

À tous ceux qui m'ont transmis un savoir et qui m'ont soutenue tout au long de mon parcours scientifique.

J'adresse aussi mes remerciements à tous mes amis et à toute ma famille, sans exception. Et à mes collègues de travail, **Riheb**, **Kaoutar** et **Wiam**.

Chikh touami khouloud

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Polyphénols

1.Définition.....4

2.Structure chimique des polyphénols.....4

3.Classification.....4

4.Localisation des polyphénols.....5

5.Biosynthèse et métabolisme des polyphénols.....5

6.Role biologique des polyphénols.....6

7.Utilisation chimique des polyphénols.....6

8.Activité antioxydante des polyphénols.....7

9.Effets potentiels sur la santé.....7

10.Facteurs de variabilité des teneurs en polyphénols.....8

10.1. Facteurs externes.....8

10.1.1. Lumière.....8

10.1.2. Températures.....8

Chapitre II : Microencapsulation par les levures

1.Généralités sur la microencapsulation des composés bioactifs dans des cellules de levure.....9

2.Cellule de levure comme microcapsule potentielle.....11

2.1. Microencapsulation de composés bioactifs dans la cellule de levure.....11

2.2. Traitement destiné à induire la perméabilité cellulaire.....14

2.2.1. Méthode de plasmolyse.....14

2.2.2. Méthode d'autolyse.....16

2.2.3. Méthode d'émulsion.....	17
2.2.4. Infusion sous vide.....	18
2.2.5. Traitement par ultrasons.....	18
2.2.6. Méthode des champs électriques pulsés (PEF).....	19
3.Efficacité de la microencapsulation.....	20
3.1. Stabilité thermique.....	20
3.2. Stabilité des composés bioactifs durant le stockage.....	21
3.4. Activité antioxydante.....	22
3.5. Solubilité.....	22
4.Capacité de libération dans les sites cibles et l'environnement digestif.....	22

Matériel et méthodes

1.Matériel végétal.....	24
2. Méthodologie.....	24
2.1. Extraction.....	24
2.2. Microencapsulation des composés phénoliques.....	25
2.2.1. Préparation de la souche de levure.....	25
2.2.2. Plasmolyse des souches de levures.....	25
2.2.3. Microencapsulation des composés phénoliques	25
2.2.4. Observation microscopique des microcapsules.....	25
2.2.5. Efficacité d'encapsulation.....	26
2.3. Dosage des composés phénoliques.....	26
2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	26
2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	26
2.4. Analyse FTIR.....	27
2.5. Effet de la microencapsulation sur l'activité antioxydante.....	27
2.5.1. Méthode ABTS.....	27
2.5.2. Méthode de la réduction de phénanthroline.....	28
2.6. Analyse statistique.....	29

Résultats et discussion

1. Observation microscopique de l'encapsulation des extraits de <i>Pulicaria odora</i> par des cellules de levure intactes et plasmolysées.....	30
2. Teneurs en composés phénolique de <i>Pulicaria odora</i>.....	32
2.1. Courbes d'étalonnage.....	32
2.2. L'effet de l'encapsulation sur la teneur en composés phénoliques.....	33
2.3 Analyse FTIR des extraits avant et après encapsulation.....	39
3. Effet de l'encapsulation sur l'activité antioxydante des extraits de <i>Plucaria odora</i>.....	40
Conclusion.....	44
Références Bibliographiques.....	46

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de l'encapsulation des composés phénoliques extraits de *Pulicaria odora* dans les cellules de *Saccharomyces cerevisiae* sur leur teneur en substances bioactives et leur activité antioxydante. Les dosages ont été réalisés par des méthodes spectrophotométriques, tandis que les interactions entre les composés et les parois cellulaires ont été vérifiées par spectroscopie FTIR. L'activité antioxydante a été mesurée en combinant deux tests : le test à la phénanthroline pour estimer la capacité réductrice, et le test ABTS pour quantifier la capacité de piégeage des radicaux libres.

Les résultats obtenus montrent que l'encapsulation entraîne une baisse des concentrations en polyphénols totaux et en flavonoïdes, mais améliore globalement l'activité antioxydante selon le test ABTS. Les levures plasmolysées ont permis une meilleure rétention des polyphénols, tandis que les levures intactes ont montré une affinité plus élevée pour les flavonoïdes. Cependant, la capacité réductrice, mesurée par la méthode à la phénanthroline, a diminué suite à la plasmolyse, suggérant une perturbation de certains mécanismes antioxydants. L'analyse FTIR a confirmé l'existence d'interactions moléculaires entre les extraits végétaux et les composants de la paroi cellulaire.

Ces résultats suggèrent que l'encapsulation dans les cellules de levure, notamment avec *Pulicaria odora*, constitue une stratégie prometteuse pour la stabilisation et la valorisation de composés antioxydants naturels. Cette approche pourrait trouver des applications intéressantes dans les industries agroalimentaires et cosmétiques. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'impact de la structure cellulaire sur la libération et l'efficacité des composés encapsulés.

Mots clés : *Pulicaria odora*, composés phénoliques, encapsulation, activité antioxydante, *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the effect of encapsulating phenolic compounds extracted from *Pulicaria odora* into *Saccharomyces cerevisiae* cells on their bioactive content and antioxidant activity. Quantification was performed using spectrophotometric methods, while interactions between the compounds and yeast cell walls were verified by FTIR spectroscopy. Antioxidant activity was assessed using two complementary tests : the o-phenanthroline method to estimate reducing capacity, and the ABTS assay to measure free radical scavenging activity. The results showed that encapsulation led to a decrease in total polyphenol and flavonoid contents, but overall enhanced antioxidant activity according to the ABTS test. Plasmolyzed yeast cells exhibited better retention of polyphenols, while intact cells showed higher affinity for flavonoids. However, the reducing capacity measured by the o-phenanthroline method decreased after plasmolysis, suggesting a disruption of certain antioxidant mechanisms. FTIR analysis confirmed the existence of molecular interactions between the plant extracts and the yeast cell wall components.

These findings suggest that encapsulation within yeast cells, particularly with *Pulicaria odora*, represents a promising strategy for stabilizing and enhancing natural antioxidant compounds. This approach could have valuable applications in the food and cosmetic industries. Nevertheless, further research is needed to better understand the impact of cell structure on the release and efficacy of the encapsulated compounds.

Keywords: *Pulicaria odora*, phenolic compounds, encapsulation, antioxidant activity, *Saccharomyces cerevisiae*.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير تغليف المركبات الفينولية المستخلصة من نبات *Pulicaria odora* داخل خلايا *Saccharomyces cerevisiae* على محتواها من المركبات النشطة بيولوجيًا ونشاطها المضاد للأكسدة. تم إجراء التحاليل باستخدام طرق طيفية، في حين تم التحقق من التفاعلات بين المركبات وجدران الخلايا الخميرية باستخدام تقنية FTIR. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارين مكملين: طريقة الفينانترولين لتقدير القدرة الاختزالية، واختبار ABTS لقياس قدرة التخلص من الجذور الحرة.

أظهرت النتائج أن عملية التغليف أدت إلى انخفاض في محتوى الفينولات الكلية والفلافونويدات، لكنها حسّنت النشاط المضاد للأكسدة وفقًا لاختبار ABTS. أظهرت الخلايا الخميرية المبلّسة قدرة أكبر على الاحتفاظ بالفينولات، بينما كانت الخلايا السليمة أكثر ارتباطًا بالفلافونويدات. ومع ذلك، فإن القدرة الاختزالية التي تم قياسها بطريقة الفينانترولين انخفضت بعد عملية البلازمة، مما يشير إلى حدوث اضطراب في بعض الآليات المضادة للأكسدة. أكدت تحاليل FTIR وجود تفاعلات جزيئية بين المستخلصات النباتية ومكونات جدار الخلية الخميرية.

تشير هذه النتائج إلى أن تغليف المركبات داخل خلايا الخميرة، وخاصة باستخدام *Pulicaria odora*، يُعدّ استراتيجية واعدة لتثبيت المركبات المضادة للأكسدة الطبيعية وتعزيز فعاليتها. ويمكن أن يكون لهذا النهج تطبيقات مهمة في الصناعات الغذائية والتجميلية. ومع ذلك، لا تزال هناك حاجة إلى المزيد من الدراسات لفهم تأثير بنية الخلية على إطلاق وفعالية المركبات المغلفة بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: المركبات الفينولية، التغليف، *Pulicaria odora*، النشاط المضاد للأكسدة، *Saccharomyces cerevisiae*.

Liste des abréviations

- **A_{0.5}** = Absorbance 0.5
- **ABTS** : 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- **AlCl₃** : Chlorure d'aluminium
- **ANOVA** : Analyse de variance
- **ATR-FTIR** : Réflection totale atténuée infrarouge à transformée de Fourier
- **BHA** : Butylhydroxyanisol
- **BHT** : Butylhydroxytoluène
- **EC** : Équivalent Catéchine
- **EE** : Efficacité d'encapsulation
- **ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène
- **Fe Cl₃** : Chlorure ferrique
- **FTIR** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- **GRAS** : Reconnu généralement comme sûr
- **PEF** : Champ électrique pulsé
- **SEM** : Microscopie électronique à balayage
- **NaCl** : Chlorure de sodium
- **DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
- **IC₅₀** : Concentration inhibitrice médiane (50 % d'inhibition)
- **IRE** : Élément réflectif interne (cristal de diamant)
- **K₂S₂O₈** : Persulfate de potassium
- **KV** = kilovolt
- **LI** : Levure Intacte
- **LP** : Levure Plasmolysée
- **m/v** : masse (soluté) / volume (solution)
- **mg EAG/g ES** : Milligrammes équivalents acide gallique par gramme d'extrait sec
- **mg EQ/g ES** : Milligrammes équivalents quercétine par gramme d'extrait sec
- **MIRacle™** : Accessoire ATR pour spectromètre FTIR
- **Na₂CO₃** : Carbonate de sodium
- **SOD** : Superoxyde Dismutase
- **SYTOX** : Nom de la famille de colorants fluorescents.

Liste des abréviations

- **TPE** : Concentration totale des composés phénoliques encapsulés
- **TPP⁺** : Tétraphénylphosphonium
- **CPF** : Protocole combiné (émulsion – séchage)
- **N/A** : Non disponible / Non applicable
- **rpm** : Tours par minute
- **p/p** : poids/poids
- **v/v** : volume/volume
- **W** : Watt
- **KHz** : Kilohertz
- **PH** : Potentiel hydrogène
- **TPT** : Concentration initiale en composés phénoliques
- **UV-1800** : Modèle de spectrophotomètre Shimadzu
- **V/v/v** : volume/volume/volume
- **PAL** : Phénylalanine ammonia-lyase.
- **TAL** : Tyrosine ammonia-lyase.
- **PPO** : Polyphénol oxydase.
- **LAR** : Leucoanthocyanidine réductase
- **CHS** : Chalcone synthase.
- **ROS** : Reactive Oxygen Species (Espèces réactives de l'oxygène).
- **UV** : Ultraviolet.
- **CNSL** : Cashew Nut Shell Liquid (liquide de coque de noix de cajou)

Liste des figures

Figure 01 : Structure chimique des fractions phénoliques.....	04
Figure 02 : La classification et les structures chimiques des polyphénols.....	05
Figure 03 : Structure de la cellule de levure.....	09
Figure 04 : L'enveloppe cellulaire de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
Figure 05 : Étapes de la microencapsulation de composés bioactifs dans les cellules de levure.....	14
Figure 06 : Illustration du procédé de plasmolyse.....	15
Figure 07 : Illustration de l'autolyse processus.....	16
Figure 08 : Illustration du procédé à base d'émulsion.....	17
Figure 09 : Illustration du procédé d'infusion sous vide.....	18
Figure 10 : Illustration du procédé par ultrasons.....	19
Figure 11 : Vue schématique de la paroi cellulaire et du rescantage de la membrane cellulaire après traitement par champ électrique pulsé (PEF).....	20
Figure 12 : plante <i>Pulicaria odora</i>	24
Figure 13 : Observation microscopique de l'encapsulation des extraits de <i>Pulicaria odora</i> par des cellules de levure.....	30
Figure 14 : Courbes d'étalonnage.....	33
Figure 15 : Effet d'encapsulation sur la teneur en composés phénoliques.....	34
Figure 16 : Effet d'encapsulation sur la teneur en composés phénoliques.....	36
Figure 17 : Spectres FTIR des extraits avant et après encapsulation.....	39

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Role de la technique d'encapsulation par les cellules de levure sur les composés bioactifs naturels.....	12
Tableau 2 : Activité antioxydante par la méthode d'ABTS et Phénanthroline.....	41

INTRODUCTION

Depuis toujours, l'homme accorde une grande importance aux plantes pour leur capacité à soulager et traiter diverses affections. Elles constituent la base de nombreuses pratiques de médecine traditionnelle, notamment grâce à leur richesse en métabolites secondaires tels que polyphénols, alcaloïdes, terpènes et les flavonoïdes, souvent utilisés comme composés actifs. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % de la population mondiale dépend encore aujourd'hui de la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires (Ventrella et Marinho, 2008 ; Ladoh *et al.*, 2014). L'Algérie dispose d'un patrimoine végétal riche, en particulier en plantes aromatiques et médicinales, présentant un fort potentiel d'exploitation dans plusieurs secteurs comme la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire. Ces plantes sont appréciées pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Elles sont également à l'origine de produits à forte valeur ajoutée, tels que les huiles essentielles et les extraits végétaux, généralement constitués de mélanges complexes (Kechar *et al.*, 2016). Parmi les familles botaniques les plus importantes de la flore algérienne, celle des Astéracées occupe une place de choix. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle, en raison de la richesse de ses espèces en composés bioactifs (Kechar *et al.*, 2016).

Les composés bioactifs sont depuis longtemps reconnus pour leurs bienfaits sur la santé humaine et sont encouragés à être ajoutés à l'alimentation par le biais de divers produits tels que les huiles essentielles, les vitamines, les composés antioxydants, etc. Les sources de composés bioactifs sont variées, allant de sources animales comme l'huile de poisson à des sources végétales telles que les légumes, les racines, les noix, les fruits et les céréales (Fernandes *et al.*, 2019 ; Shashirekha *et al.*, 2015 ; Lieu *et al.*, 2024).

Dans ce contexte, notre étude s'est portée sur une espèce de cette famille, *Pulicaria odora*, une plante qui pousse naturellement dans le village de Tahara, commune de Loulouj, daïra de Collo, wilaya de Skikda.

Le genre *Pulicaria* représente le troisième plus grand groupe au sein de la famille des Astéracées. Il comprend environ 85 espèces, majoritairement herbacées (Touati *et al.*, 2014), réparties dans diverses régions telles que le bassin méditerranéen, l'Europe (Espagne, France...), l'Asie (Chine, Turquie, Japon, Corée...) et l'Afrique (Algérie, Égypte, Maroc...) (Quézel et Santa, 1963). En Algérie, ce genre est représenté par 16 espèces, dont quatre sont originaires du Sahara (Boumaraf *et al.*, 2016).

Parmi ces espèces, *Pulicaria odora* occupe une place importante en médecine traditionnelle nord-africaine. Elle est utilisée pour traiter divers maux tels que les douleurs dorsales, les

troubles digestifs, les crampes menstruelles, les blessures ainsi que l'ulcère gastrique (**Ezoubeiri et al., 2005**).

Au Maroc, elle est connue sous le nom de "Mssakhen" et est traditionnellement administrée aux femmes après l'accouchement. En plus de ses usages thérapeutiques, elle est également employée comme épice, notamment pour parfumer le pain et la viande grâce à sa saveur particulière (**Ezoubeiri et al., 2005**). Par ailleurs, selon (**Bellekhdar., 1977**), les racines de cette plante sont utilisées pour leurs propriétés anti-inflammatoires, un usage confirmé par **Hanbali et al. (2005)**.

La plante *Pulicaria odora* doit ses propriétés bénéfiques en grande partie à sa richesse en polyphénols, des composés connus pour leurs effets antioxydants et thérapeutiques. Toutefois, ces molécules sont particulièrement instables et peuvent facilement se dégrader sous l'effet de la lumière, de la chaleur ou de l'oxygène. Pour pallier cette fragilité, l'encapsulation constitue une méthode efficace permettant de protéger les polyphénols en les enfermant dans des structures adaptées, telles que des microcapsules ou des nanoparticules, limitant ainsi leur exposition aux facteurs externes (**Costa et al., 2021 ; Zhang et al., 2025**).

L'encapsulation présente de nombreux avantages, notamment en renforçant la stabilité des polyphénols et en prolongeant leur durée de conservation. Elle favorise également leur biodisponibilité, c'est-à-dire leur absorption et leur utilisation efficace par l'organisme. En les protégeant de la chaleur, de la lumière et de l'oxygène, elle permet de préserver leurs propriétés biologiques et leurs effets bénéfiques sur la santé. Aujourd'hui, les techniques d'encapsulation sont largement étudiées dans les domaines de la recherche alimentaire et des compléments nutritionnels, car elles offrent des solutions efficaces pour exploiter pleinement le potentiel des sources naturelles riches en polyphénols, tout en limitant leur dégradation (**Pasukamonset et al., 2016 ; Bińkowska et al., 2024 ; Lu et al., 2025 ; Zhang et al., 2025**).

L'encapsulation à l'aide de cellules de levure (*Saccharomyces*) est une méthode simple, peu coûteuse et adaptée à une production à grande échelle pour l'administration de substances bioactives (**Round et Nelson, 2006 ; Kasote et al., 2018 ; Labuschagne, 2018 ; Günal-Köroğlu et al., 2024 ; Grambusch et al., 2024**). Elle offre plusieurs avantages, notamment sa compatibilité avec les procédés industriels et sa capacité à traiter de grandes quantités de matières premières. La structure de la paroi cellulaire de la levure permet de contrôler la libération des composés actifs tout en les protégeant efficacement contre l'oxydation et la dégradation. Par exemple, l'acide chlorogénique encapsulé dans la levure a montré une stabilité élevée face aux variations d'humidité et de température. De plus, cette technique ne nécessite aucun additif, utilisant uniquement de l'eau, de la levure et les matières premières, ce qui

garantit son innocuité pour des applications alimentaires (Joye et McClements, 2014 ; Karaman, 2020 ; Khameneh *et al.*, 2021 ; Li *et al.*, 2022 ; Oliveira *et al.*, 2022 ; Doolam *et al.*, 2025).

Dans le cadre de cette étude, l'objectif est d'évaluer l'impact de la microencapsulation dans des cellules de levure sur la teneur en composés phénoliques et sur l'activité antioxydante de *Pulicaria odora*.

Le présent travail est structuré en trois parties principales :

Une revue bibliographique porte sur l'encapsulation de composés bioactifs dans les cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae*. Elle explore en détail les différents mécanismes d'encapsulation, les traitements préalables appliqués aux cellules afin d'en optimiser la capacité d'adsorption et d'encapsulation, ainsi que les facteurs influençant l'efficacité du procédé.

Une deuxième partie décrit le matériel et les méthodes employés pour la mise en œuvre de la microencapsulation, ainsi que les protocoles utilisés pour la quantification des composés phénoliques, notamment les polyphénols totaux et les flavonoïdes. L'activité antioxydante est également évaluée à l'aide de tests spécifiques, tels que les méthodes à la phénanthroline et à l'ABTS.

Enfin, une partie consacrée aux résultats, à leur interprétation et à une conclusion générale.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Polyphénols

1. Définition

Le terme « polyphénols », ou « composés phénoliques », désigne un vaste groupe de molécules dont on recense à ce jour plus de 10 000 structures différentes. Ces composés se caractérisent par la présence d'au moins un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, substitués ou non.

Dans le règne végétal, la majorité des composés phénoliques dérivent de l'acide trans-cinnamique, lui-même synthétisé à partir des acides aminés L-phénylalanine et tyrosine, sous l'action des enzymes phénylalanine ammonia-lyase (PAL) et tyrosine ammonia-lyase (TAL). Ces enzymes assurent la transition entre le métabolisme primaire (via la voie du shikimate) et le métabolisme secondaire (via la voie des phénylpropanoïdes) (Chehrit-Hacid, 2016).

2. Structure chimique des polyphénols

Les polyphénols présentent une grande diversité structurale, comprenant généralement des groupes fonctionnels hétéroatomiques, en plus des hydroxyles. Ils peuvent comporter des liaisons ester ou éther, et parfois des dérivés d'acides carboxyliques.

Les tanins hydrolysables, par exemple, contiennent fréquemment des liaisons esters. En revanche, les tanins condensés, qui sont non hydrolysables, possèdent des structures plus complexes avec des liaisons carbone-carbone stables, en plus des esters et éthers labiles. Cette diversité structurale confère aux polyphénols des propriétés biochimiques variées (Abdel et Mansour, 2017).

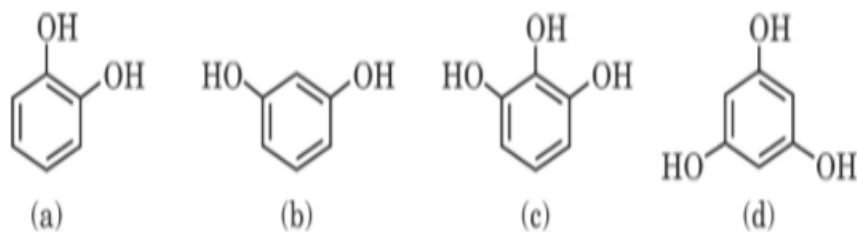


Figure 01 : Structure chimique des fractions phénoliques : (a) Pyrocatechol (b) Résorcinol (c) Pyrogallol (d) Phloroglucinol (Abdel et Mansour, 2017).

3. Classification

Les polyphénols sont largement présents dans le règne végétal et abondent dans divers aliments tels que les fruits, les légumes ou encore le thé. On dénombre plus de 8000 structures différentes, classées principalement selon leur structure chimique (figure 5). Les principales familles comprennent les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins et les stilbènes. En tant que métabolites secondaires des plantes, les polyphénols se caractérisent par la présence de noyaux aromatiques portant un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils se retrouvent

généralement sous forme de mélanges complexes, et leur biodisponibilité est souvent limitée, car ils sont difficilement absorbés sous leur forme naturelle (Ding *et al.*, 2018).

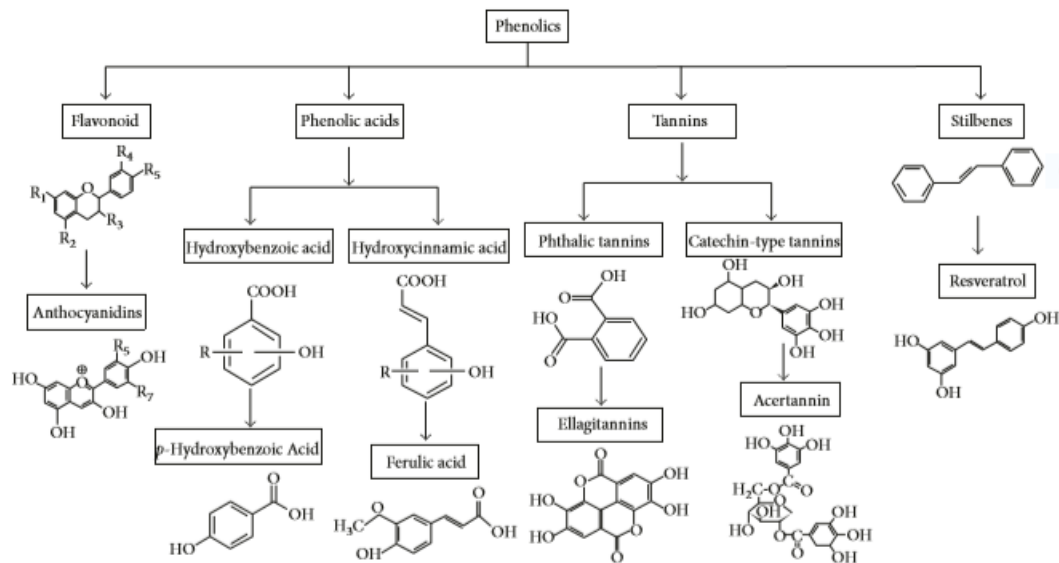


Figure 02 : La classification et les structures chimiques des polyphénols (Ding *et al.*, 2018).

4. Localisation des polyphénols

Les polyphénols sont principalement localisés dans deux compartiments cellulaires : les vacuoles et la paroi cellulaire. Dans les vacuoles, ils se présentent généralement sous forme conjuguée (liés à des sucres ou à des acides organiques), ce qui facilite leur solubilité et réduit leur toxicité intracellulaire. Au niveau de la paroi, ils sont associés à des polymères comme la lignine ou à d'autres polyphénols tels que les flavonoïdes, contribuant ainsi à la rigidité structurelle des parois cellulaires, à la croissance végétale et à la défense contre les pathogènes (Naczki et Shahidi, 2006).

La distribution des polyphénols varie également selon les organes et tissus de la plante. Par exemple, dans les feuilles, les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement localisés dans l'épiderme, tandis que dans les fruits, leur accumulation peut être spécifique. Chez la pomme, les anthocyanes participent à la coloration de la peau, tandis que d'autres composés influencent les caractéristiques organoleptiques de la chair, comme l'amertume et l'astringence (Bénard, 2009).

5. Biosynthèse et métabolisme des polyphénols

Les polyphénols sont issus de l'assemblage de structures simples dérivées de phénols de base. Leur biosynthèse repose principalement sur la voie des phénylpropanoïdes, issue de l'acide shikimique, ou sur la voie des acides phénoliques, responsable de la formation des gallo-tannins et composés apparentés. Les flavonoïdes et l'acide caféique jouent également un rôle important dans cette voie.

La synthèse des polyphénols implique des précurseurs comme la phénylalanine et la malonyl-CoA. Par exemple, les gallo-tannins peuvent être formés par oxydation de la 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose ou par dimérisation, aboutissant à la formation de tanins hydrolysables. Les anthocyanidines, précurseurs des tanins condensés, sont synthétisées grâce à l'action d'enzymes clés telles que la dihydroflavonol réductase et la leucoanthocyanidine réductase (LAR). L'ajout de motifs catéchine et épicatechine permet ensuite la formation de polymères complexes, non hydrolysables (**Tanner *et al.*, 2003**).

Par ailleurs, la glycosylation par l'enzyme glucosyltransférase augmente la solubilité des polyphénols (**Krasnow et Murphy, 2004**).

Deux enzymes majeures interviennent également dans leur métabolisme :

- La polyphénol oxydase (PPO), qui catalyse l'oxydation des o-diphénols en o-quinones. Ces derniers polymérisent rapidement pour former des pigments bruns, noirs ou rouges, expliquant notamment le brunissement des fruits. Chez les insectes, la PPO est impliquée dans le durcissement de la cuticule.
- La laccase, une enzyme principalement fongique, catalyse le clivage des cycles hydrocarbonés et l'hydroxylation des phénols. Elle joue un rôle clé dans la dégradation de la lignine, un composant structural complexe et résistant du bois (**Hertweck, 2009**).

6. Rôle biologique des polyphénols

Les composés phénoliques remplissent des fonctions écologiques essentielles au sein des plantes (**Lattanzio *et al.*, 2006**) :

- Régulation hormonale : ils peuvent moduler l'activité d'hormones végétales telles que l'auxine, en l'inhibant ou en la stimulant.
- Protection contre les UV : certains polyphénols, notamment les pigments, absorbent les rayons ultraviolets, réduisant ainsi les effets d'ionisation nocifs.
- Rôle défensif : en tant que phytoalexines, ils aident à prévenir les infections microbiennes.
- Signalisation : ces molécules participent à des processus complexes comme la maturation des fruits, la défense cellulaire ou encore la réponse au stress.

7. Utilisation chimique des polyphénols

Les polyphénols possèdent de nombreuses applications chimiques en raison de leurs propriétés réactives. Historiquement, ils ont été utilisés comme colorants naturels pour la teinture de fibres non synthétiques, en particulier à partir d'extraits riches en tanins, comme ceux issus de l'écorce de grenade en Inde (**Jindal et Sharma, 2004**).

Ils ont également servi dans le tannage du cuir, grâce à leur capacité à réagir avec les protéines pour former des complexes stables. Aujourd'hui, les polyphénols trouvent de nouvelles applications en tant que précurseurs dans la chimie verte, participant à des procédés respectueux de l'environnement (**Polshettiwar et Varma, 2008**).

Le liquide de coque de noix de cajou (CNSL) représente une source importante de composés phénoliques utilisés dans l'industrie des polymères. Il entre dans la formulation de peintures, vernis, résines, revêtements, polymères polyuréthanes, ainsi que dans des matériaux composites comme les bois traités et certains caoutchoucs (**Edoga et al., 2006**).

8. Activité antioxydante des polyphénols

Les polyphénols exercent une activité antioxydante marquée via plusieurs mécanismes :

- Neutralisation directe des radicaux libres réactifs,
- Chélation des ions métalliques catalysant la formation de radicaux,
- Inhibition d'enzymes pro-oxydantes,
- Régénération des antioxydants lipophiles, comme l' α -tocophérol (**Rice-Evans et al., 1996 ; Nijveldt et al., 2001 ; Liu et Guo, 2005**).

Deux principaux mécanismes d'action ont été proposés :

1. Transfert d'hydrogène : les polyphénols cèdent un atome d'hydrogène pour stopper la propagation des radicaux libres.
2. Transfert d'électron unique : formation d'un cation radicalaire stable.

L'efficacité antioxydante dépend de facteurs tels que l'énergie de dissociation des liaisons O–H et le potentiel d'ionisation du composé (**Quideau et al., 2011 ; Makris et Boskou, 2014**).

Ces réactions sont essentielles pour neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme $O_2^{\bullet-}$, HO^{\bullet} ou ROO^{\bullet} , produites en excès lors de situations de stress oxydatif (inflammation, exposition aux polluants, radiations, etc.) (**Böhm et al., 1998 ; Bravo, 1998 ; Dangles, 2006**).

9. Effets potentiels sur la santé

Les extraits polyphénoliques issus de pépins de raisin, d'écorce de pin, de pulpe d'olive ou encore de peaux de fruits sont souvent intégrés à des compléments alimentaires, produits cosmétiques ou aliments fonctionnels, bien que aucune allégation de santé officielle ne soit encore établie (**Watson, 2012**).

La grande diversité structurale des polyphénols complique l'établissement de recommandations nutritionnelles précises et rend difficile la généralisation de leurs effets physiologiques. Certaines allégations doivent encore être validées scientifiquement (**Halliwell, 2007**). Parmi les polyphénols, on trouve des phytoestrogènes, qui présentent une affinité pour les

récepteurs aux œstrogènes. Leurs effets peuvent être bénéfiques ou délétères, aussi bien chez l'humain que chez les animaux d'élevage (**Woclawek-Potocka *et al.*, 2013**).

Les recherches actuelles, qu'elles soient *in vitro* ou *in vivo*, sont encore limitées et parfois contradictoires, en raison de plusieurs facteurs (**Williamson et Manach, 2005**) :

- Absence de biomarqueurs validés, notamment pour les effets anticancéreux ou anti-inflammatoires ;
- Manque d'études à long terme permettant d'établir des liens mécanistiques solides ;
- Utilisation de concentrations non physiologiques dans les essais *in vitro*, compromettant leur extrapolation à l'organisme vivant.

Cependant, des études animales ont montré que les polyphénols peuvent être absorbés au niveau de l'intestin grêle (Carbonaro *et al.*, 2001), et qu'ils peuvent subir des transformations enzymatiques par la microflore intestinale, produisant des métabolites mieux absorbés (**Del Rio *et al.*, 2010**).

10. Facteurs de variabilité des teneurs en polyphénols

10.1. Facteurs externes

Le métabolisme des composés phénoliques est fortement influencé par des facteurs environnementaux tels que la lumière, la température, les agents pathogènes, ainsi que les traitements agronomiques (**Dinelli *et al.*, 2006**).

10.1.1. Lumière

La lumière exerce une action à la fois quantitative et qualitative sur l'accumulation des polyphénols, en particulier des flavonoïdes. Elle stimule l'expression des enzymes clés de la biosynthèse phénolique, entraînant une augmentation de la teneur en composés phénoliques dans les tissus exposés (**Hireche, 2013**).

10.1.2. Température

La température influence les teneurs en polyphénols aussi bien durant la croissance des fruits qu'après la récolte.

Un stress thermique, à partir de 35°C, favorise la synthèse de flavonoïdes et d'acides hydroxycinnamiques. À l'inverse, un stress par le froid (4°C) peut également activer les enzymes PAL et CHS, responsables de la biosynthèse des polyphénols. Par ailleurs, à des températures extrêmes, l'oxydation enzymatique des polyphénols par la polyphénol oxydase (PPO) et la peroxydase (POD) est inhibée, permettant une accumulation plus importante de ces composés (**Hireche, 2013**).

Chapitre II : Microencapsulation par les levures

1. Généralités sur la microencapsulation des composés bioactifs dans des cellules de levure

Saccharomyces cerevisiae est utilisé depuis longtemps dans les industries alimentaires, notamment pour la fabrication du pain et des boissons alcoolisées, et est considéré comme sans danger. En microencapsulation, la levure est depuis longtemps un matériau privilégié et largement utilisé pour de nombreux composés (Shi *et al.*, 2007 ; Parapouli *et al.*, 2020 ; Dimopoulos *et al.*, 2021). La principale raison de ce choix réside dans ses propriétés structurales et ses avantages cellulaires spécifiques par rapport à d'autres matériaux.

La levure est un organisme eucaryote de forme sphérique ou elliptique (Figure 3). Les cellules ont une taille relativement petite, avec un diamètre d'environ 2 à 5 μm , et possèdent une paroi cellulaire rigide (Paramera *et al.*, 2014 ; Kilcher *et al.*, 2008).

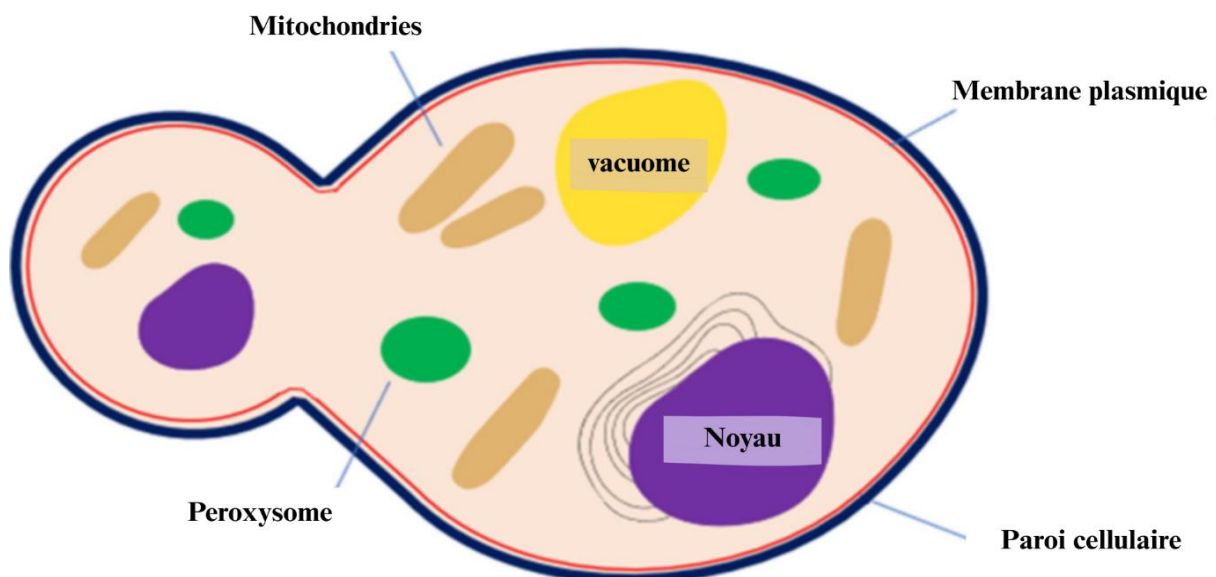


Figure 03 : Structure de la cellule de levure

Les couches externes de la paroi cellulaire comprennent une mannoprotéine, responsable de la porosité, et une couche interne composée de β -1,3- et β -1,6-glucanes et de chitine, conférant une rigidité mécanique (Fig. 4) (Paramera *et al.*, 2014). Cette structure augmente l'efficacité de la protection des composés bioactifs après les processus de microencapsulation.

Les cellules de levure possèdent une fine membrane plasmique, principalement composée de phospholipides, ainsi que de stérols et de protéines. Certaines protéines spécifiques permettent une absorption sélective ou une sécrétion membranaire de substances solubles (Van der Rest *et al.*, 1995). Ces éléments peuvent agir comme des barrières fonctionnelles lors de la

microencapsulation (**Coradello & Tirelli, 2021**). La perméabilité sélective, qui contrôle ce qui entre et sort de la cellule, est l'une des fonctions principales de la membrane plasmique.

En plus des avantages offerts avant et pendant le processus de microencapsulation, la levure joue également efficacement son rôle de "coque protectrice" après la microencapsulation. Selon une étude de **Normand et al. (2005)**, la paroi cellulaire reste stable jusqu'à 263 °C et n'est pas affectée par les composés microencapsulés. Cette propriété est particulièrement intéressante pour le secteur alimentaire, car les cellules de levure peuvent protéger les composés microencapsulés lors des étapes de chauffage dans la production et la transformation des aliments. L'analyse SEM menée par **Errenst et al. (2021)** a montré que le limonène microencapsulé par les cellules de levure restait intact après 20 heures de lavage à l'hexane, sans perte du composé.

En plus d'être un matériau efficace pour la microencapsulation, les cellules de levure se distinguent également par leur valeur nutritionnelle et bénéfique pour la santé. Les polysaccharides de la paroi cellulaire, en particulier les β -1,3- et β -1,6-D-glucanes hydrosolubles, sont résistants aux toxines, possèdent des propriétés antioxydantes, et sont utilisés dans des thérapies anticancéreuses (**Kogani et al., 2008 ; Sambrani et al., 2019**).

L'un des objectifs principaux de la microencapsulation est de garantir que les composés protégés soient libérés au bon endroit et au bon moment. Dans des conditions simulées du tube digestif, les microcapsules de levure peuvent libérer leur contenu grâce aux milieux acide (fluide gastrique) ou basique (fluide pancréatique), qui peuvent détruire la structure de la paroi cellulaire (**Paramera et al., 2014**).

Bertolo et al. (2019) ont montré que la digestibilité *in vitro* de la levure atteint plus de 95 % et qu'elle pourrait également servir de source de protéines pour l'organisme.

Grâce à ses avantages technologiques, sanitaires et économiques, la levure est devenue un matériau de confiance et préféré aussi bien par les producteurs que par les consommateurs. En plus de ses caractéristiques structurales remarquables, la cellule de *S. cerevisiae* s'impose comme un matériau potentiel.

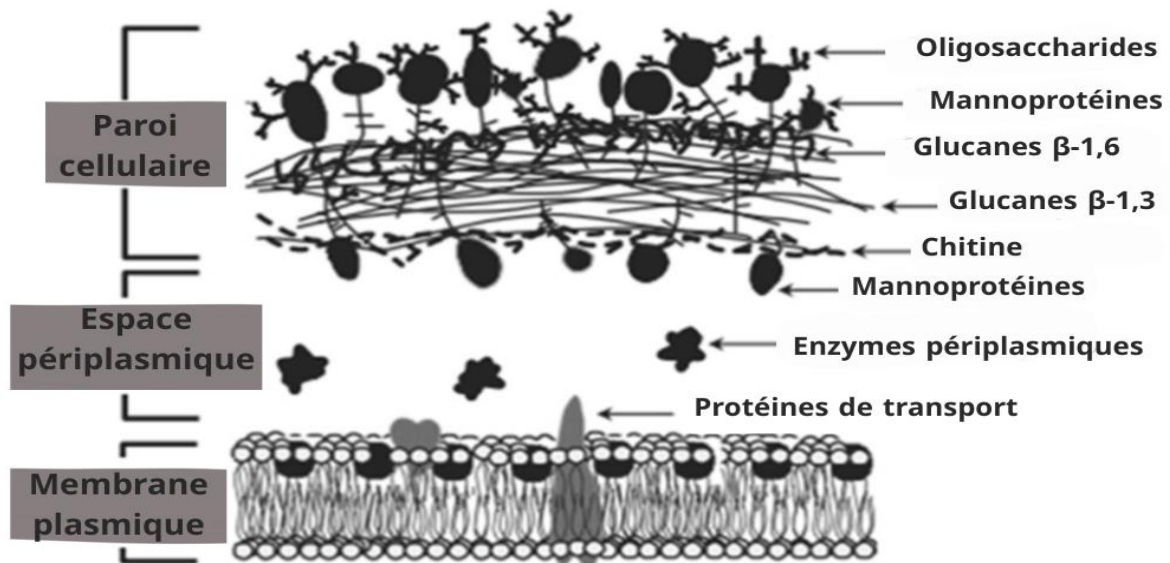


Figure 04 : L'enveloppe cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* (Paramera *et al.*, 2014)

Matériau de micro encapsulation pouvant être appliqué dans la technologie alimentaire.

2. Cellule de levure comme microcapsule potentielle

2.1. Micro encapsulation de composés bioactifs dans la cellule de levure

La levure possède un statut GRAS (*Generally Recognized As Safe*) et est biodégradable. Les cellules de levure, qu'elles soient vivantes ou mortes, humides ou sèches, intactes ou traitées, peuvent toutes être utilisées pour la micro encapsulation (Paramera *et al.*, 2011 ; Bishop *et al.*, 1998). La mise en œuvre de cette méthode est également simple grâce à l'utilisation de nombreux agents de traitement de la levure, rendant les procédés de microencapsulation dans la levure de plus en plus variés et adaptables à chaque objectif d'encapsulation.

Grâce à leur structure particulière, les cellules de levure peuvent être utilisées pour la microencapsulation de composés hydrophobes et hydrophiles, qu'ils soient solubilisés dans des solvants organiques ou aqueux.

Des études de microencapsulation ont été menées avec de nombreux composés bioactifs, tels que :

- La curcumine (Paramera *et al.*, 2011),
- L'acide chlorogénique (Shi *et al.*, 2007),

Chapitre II : Microencapsulation par les levures

- La thymoquinone (**Karaman, 2020**),
- Le limonène (**Normand et al., 2005**),
- Et les anthocyanines (**Dong et al., 2020**).

Les résultats obtenus ont démontré l'adéquation des cellules de levure en raison de leur performance significative en matière de microencapsulation et de leur efficacité à protéger les composés dans des conditions défavorables telles que la lumière, la température ou encore l'exposition aux environnements gastro-intestinaux.

Diverses approches sont utilisées pour encapsuler les composés bioactifs dans les cellules de levure (**voir Tableau 1 et Figure 05**). Allant de méthodes simples à des combinaisons de techniques, les stratégies de microencapsulation utilisant les cellules de levure deviennent de plus en plus diversifiées.

Tableau 1 : Rôle de la technique d'encapsulation par les cellules de levure sur les composés bioactifs naturels

Technique d'encapsulation	Matériau de paroi	Matériau noyau	Efficacité d'encapsulation (%)	Biodisponibilité (%)		Références
				Estomac	Intestin grêle	
Plasmolyse	-Cellule de levure	-Huile de graine de	59.97 ± 3.70%	N/A	N/A	(Karaman, 2020) (Shi et al., 2007) (Lieu et al., 2020) (Nguyen et al., 2018)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	cumin noir	5.2%–12.6%	N/A	N/A	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-Un antioxydant hydrosoluble	36.45 ± 0.35%	N/A	N/A	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Anthocyanine	27%	N/A	N/A	
Autolytique	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Huile de poisson	82.7 ± 1.0%	N/A	N/A	Czerniak et al., 2015
			50.1–57.7%	N/A	N/A	

Chapitre II : Microencapsulation par les levures

	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Huile essentielle d'origan				Dimopoulos et al., 2021
Émulsion	Cellule de levure	Limonène	70.6–85.9%	N/A	N/A	Errenst et al., 2021 Kavosi et al., 2018 Fu et al., 2021
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Huile de graines de	53–65%	N/A	N/A	
	Cellule de levure	pourpier Huile de krill antarctique	N/A	23.80% ± 2.34%	71.08% ±1.77%	
Traitements par ultrasons	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Anthocyanine	40.22± 0.67%	N/A	N/A	Lieu et al., 2020 de Andrade et al., 2022
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Curcumine	58.5%	N/A	N/A	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Fisétine	76.6%	N/A	N/A	
Infusion sous vide	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Curcumine	Supérieur à 91.4%	N/A	N/A	Young et al., 2017
Champ électrique pulsé (PEF)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Huile essentielle d'origan	49.9–61.8%	N/A	N/A	Dimopoulos et al., 2021

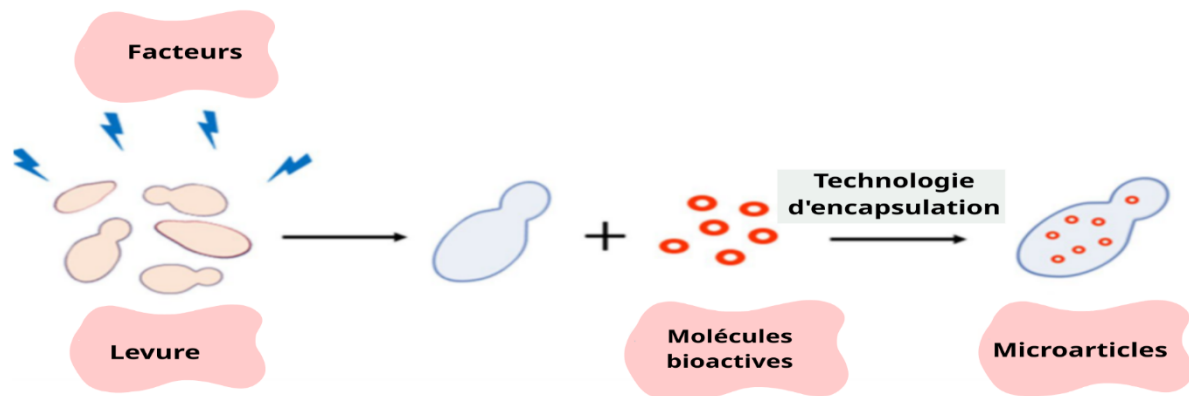


Figure 05 : Étapes de la microencapsulation de composés bioactifs dans les cellules de levure

2.2. Traitement destiné à induire la perméabilité cellulaire

2.2.1. Méthode de plasmolyse

La plasmolyse est depuis longtemps une méthode couramment utilisée pour augmenter la capacité de charge des cellules de levure (**Figure 06**). Elle repose sur l'effet de la pression osmotique : lorsque les cellules sont exposées à un milieu hypertonique, elles se contractent, entraînant une réduction de leur volume et une altération de la paroi et de la membrane plasmique, cette dernière étant le principal site affecté par la libération de constituants membranaires (**Morris *et al.*, 1986**).

Cette méthode nécessite un temps de traitement relativement long, ainsi que l'usage de produits chimiques le plus souvent du chlorure de sodium (Na Cl) (**Karaman, 2020 ; Shi *et al.*, 2007 ; Lieu *et al.*, 2020 ; Dong *et al.*, 2020**), de traitements thermiques (**Nguyen *et al.*, 2018 ; Bishop *et al.*, 1998**) et d'enzymes (**Czerniak *et al.*, 2015**). Ces traitements permettent d'améliorer la perméabilité cellulaire et la diffusion des composés bioactifs, augmentant ainsi la capacité d'encapsulation. Lorsqu'elles sont replacées dans un milieu isotonique, les cellules retrouvent partiellement leur forme, bien que leur structure interne demeure altérée (**Morris *et al.*, 1986**). **Paramera *et al.* (2011)** ont montré que la plasmolyse induite par le Na Cl provoque des modifications de la membrane cytoplasmique, notamment une altération de la structure lipidique qui augmente sa fluidité. Par ailleurs, les mannoprotéines sont partiellement dégradées, et la paroi cellulaire devient plus fine en raison de la dégradation des β -1,4 et β -1,6-glucanes.

Selon **Karaman (2020)**, les cellules de levure non plasmolysées présentent une surface lisse et régulière, tandis que les cellules plasmolysées sont légèrement rétrécies et déformées. Cette

Chapitre II : Microencapsulation par les levures

modification structurelle facilite l'incorporation de composés bioactifs. Il a été rapporté que le taux d'absorption d'huile atteint 29,98 % dans les cellules plasmolysées, contre seulement 9,59 % dans les cellules non traitées.

Shi et al. (2007) ont montré que l'efficacité de la microencapsulation de l'acide chlorogénique pouvait être doublée grâce à l'utilisation de cellules plasmolysées. De même, **Dong et al. (2020)** ont observé une amélioration significative de la capacité d'encapsulation des anthocyanines lorsque la concentration en Na Cl atteignait 10 %.

Nguyen et al. (2018) ont démontré que la teneur en eau des cellules influence également l'efficacité de la microencapsulation : les cellules humides présentent une perméabilité plus élevée aux composés hydrophiles, tels que les anthocyanines, ce qui augmente leur efficacité d'encapsulation.

Par ailleurs, **Bishop et al. (1998)** ont montré que la microencapsulation pouvait être réalisée par diffusion passive, indépendamment de la viabilité des cellules. Cette méthode, bien que simple à mettre en œuvre, présente cependant une efficacité limitée. Pour pallier cette limitation, la plasmolyse est souvent combinée à d'autres techniques telles que les méthodes d'émulsion (**Karaman, 2020 ; Kavosi et al., 2018**), l'usage d'éthanol ou d'ultrasons (**Lieu et al., 2020**), le séchage par pulvérisation (**Sultana et al., 2017**) ou encore la lyophilisation (**Shi et al., 2007**). En somme, la plasmolyse constitue une étape préliminaire stratégique permettant d'augmenter la capacité d'encapsulation des cellules de levure.

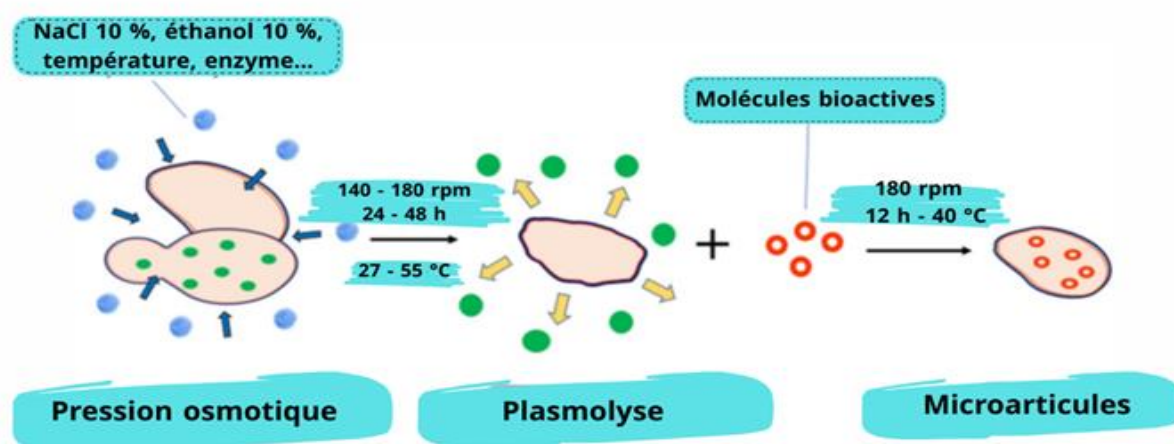


Figure 06 : Illustration du procédé de plasmolyse

2.2.2. Méthode d'autolyse

Comme la méthode de plasmolyse, l'autolyse est une technique de prétraitement des cellules avant la microencapsulation (**Figure 07**). L'autolyse des levures résulte de l'activité des enzymes hydrolytiques, notamment des protéases et nucléases, qui provoquent la libération de produits de dégradation tels que des peptides, acides aminés et nucléotides dans l'environnement (**Dimopoulos *et al.*, 2021 ; Czerniak *et al.*, 2015**).

Selon **Czerniak *et al.* (2015)**, la température optimale pour l'autolyse des levures est d'environ 55 °C, et l'ajout d'acétate d'éthyle à une concentration de 1,5 % (p/p) améliore l'efficacité de la microencapsulation de l'huile de poisson. Les observations en microscopie électronique à balayage (SEM) réalisées par **Dimopoulos *et al.* (2021)** lors de la microencapsulation de l'huile essentielle d'origan dans des levures ont révélé une dégradation de la couche externe de mannoprotéines, entraînant une perte de rigidité de la paroi cellulaire après 24 heures d'autolyse, ainsi que l'apparition de plis à la surface des cellules.

Cette dégradation facilite l'encapsulation des composés bioactifs au sein des cellules de levure. Cependant, cette méthode nécessite un temps de traitement prolongé et des températures élevées (52–85 °C). Ainsi, la durée et la température du traitement sont des facteurs critiques, particulièrement pour les composés bioactifs sensibles.

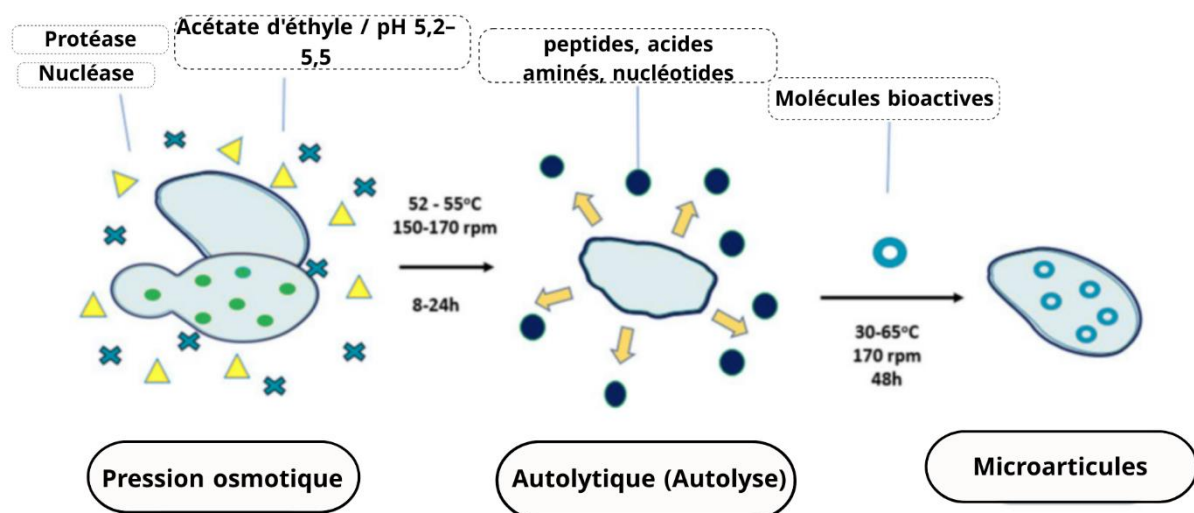


Figure 07 : Illustration de l'autolyse processus

2.2.3. Méthode d'émulsion

Les émulsions, systèmes de dispersion entre substances immiscibles comme l'huile et l'eau, sont largement utilisées en microencapsulation. L'eau joue un rôle clé en facilitant l'ouverture des parois cellulaires et en augmentant la perméabilité, permettant ainsi la pénétration des composés bioactifs dans les cellules de levure (Errenst *et al.*, 2021). Le processus consiste à mélanger les cellules de levure avec les composés à encapsuler, sous des conditions précises d'agitation, puis à récupérer les cellules chargées par centrifugation (Figure 08).

Errenst *et al.* (2021) décrivent un protocole en trois étapes pour encapsuler le limonène, combinant émulsion, contact cellulaire et séchage (CPF). L'émulsion est absorbée par les levures via adsorption de surface, forces capillaires et agglomération. De même, Fu *et al.* (2021) ont montré que l'huile de krill antarctique est efficacement encapsulée selon sa solubilité, réduisant le temps de saturation.

Après encapsulation, le séchage (pulvérisation, lyophilisation ou CPF) permet de stabiliser les produits et de prolonger leur conservation (Paramera *et al.*, 2011 ; Czerniak *et al.*, 2015). Bien que cette méthode soit simple et efficace, la présence d'huile dans la préparation finale peut limiter son application dans les produits alimentaires sans matières grasses, et la nature hydrophile ou hydrophobe du composé bioactif doit être prise en compte.

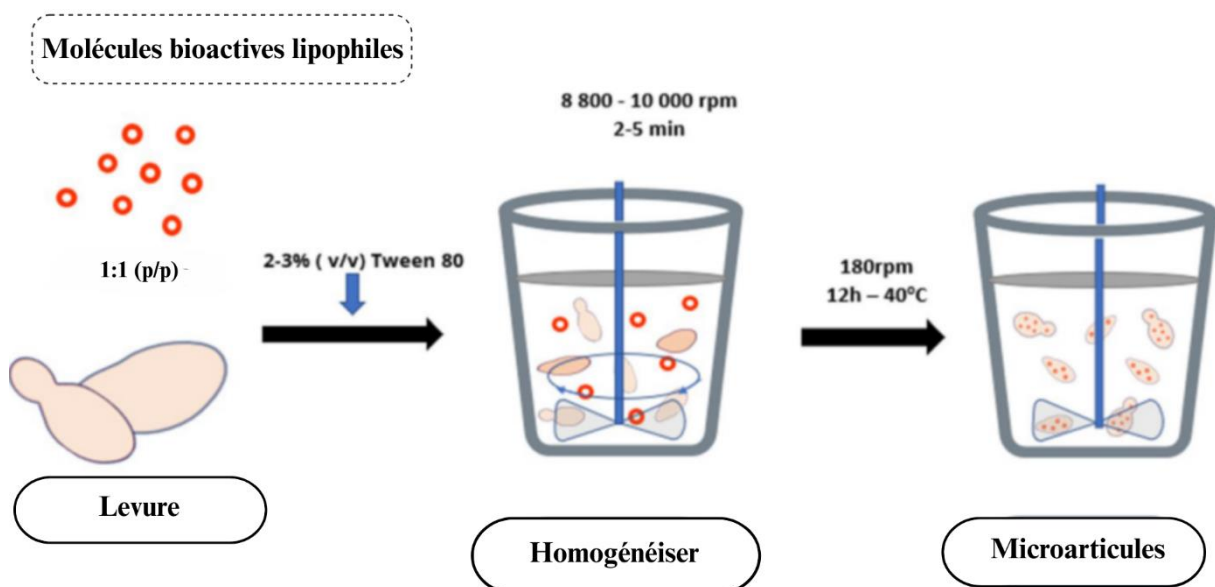


Figure 08 : Illustration du procédé à base d'émulsion

2.2.4. Infusion sous vide

L'infusion sous vide (**Figure 09**) permet une évaporation rapide du solvant, concentrant ainsi les substances biologiques, tout en facilitant leur transport à travers la paroi et la membrane cellulaires vers l'intérieur des cellules (**Young et al., 2017**). Cette méthode a été utilisée avec succès pour la microencapsulation de l'huile essentielle de Mānuka dans des cellules de levure, améliorant la stabilité de ses composés volatils dans un contexte industriel (**Liu et al., 2021**). Selon **Young et al. (2017)**, l'efficacité de l'encapsulation de la fisétine et de la curcumine dépend fortement de la concentration en éthanol, celle de 35 % offrant les meilleurs résultats. Les taux d'encapsulation atteignent alors respectivement 66,6 % et 64 %, contre seulement 10,3 % et 18,6 % par diffusion passive. En outre, le processus d'encapsulation est extrêmement rapide, inférieur à 5 minutes, soit 288 fois plus rapide qu'en diffusion passive. Ces résultats indiquent que l'infusion sous vide est une méthode bien plus efficace et économe en temps et en énergie que la diffusion passive. Toutefois, son application peut entraîner des dommages aux cellules de levure, ce qui pourrait compromettre l'efficacité globale de la microencapsulation.

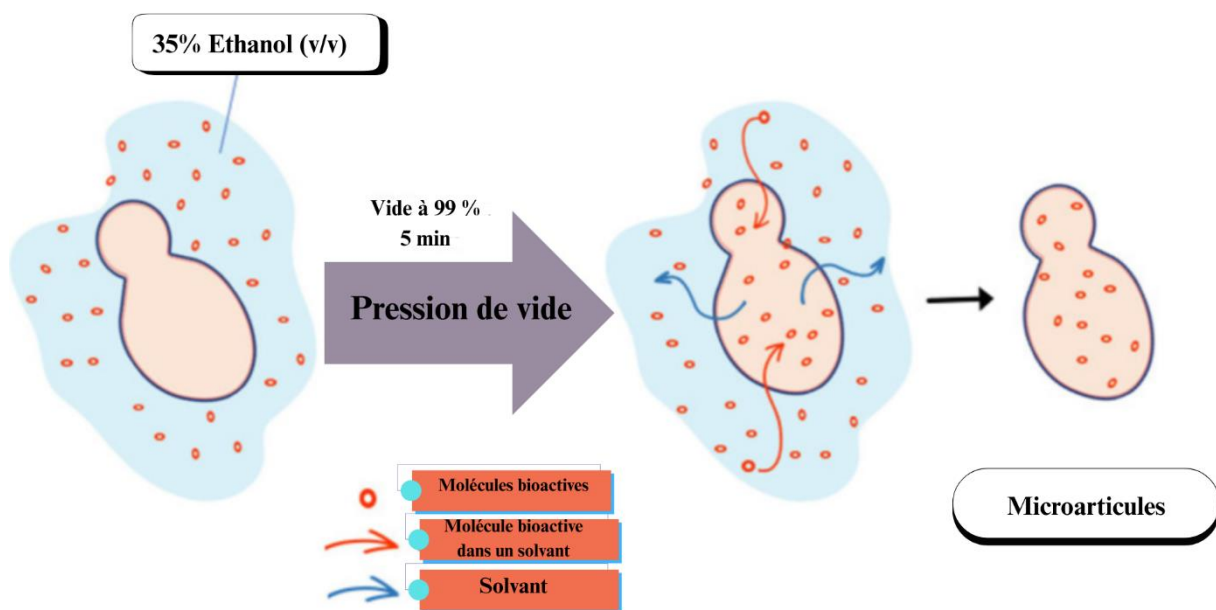


Figure 09 : Illustration du procédé d'infusion sous vide

2.2.5. Traitement par ultrasons

Dans l'industrie, les ultrasons sont couramment employés pour la lyse cellulaire et l'inactivation des micro-organismes. Ils altèrent la paroi et la membrane cellulaires en les rendant plus fines et perforées, ce qui modifie la perméabilité cellulaire (**Guerrero et al., 2001 ; Wu et al., 2015**). Ce phénomène améliore la microencapsulation des composés bioactifs dans

les levures, comme l'augmentation de l'encapsulation des anthocyanes (Lieu *et al.*, 2020) et du β -carotène (Pham-Hoang *et al.*, 2018).

Les levures traitées aux ultrasons montrent une meilleure capacité de rétention d'huile comparée à celles traitées par température, Na Cl ou éthanol (Bertolo *et al.*, 2019). Cependant, ce traitement génère de la chaleur pouvant réduire l'efficacité de l'encapsulation et accroître la dégradation des anthocyanes plus que d'autres méthodes (Lieu *et al.*, 2020). De plus, il rend les cellules plus sensibles à la chaleur (Ciccolini *et al.*, 1997). L'intensité des ultrasons influence directement les résultats, rendant le choix des paramètres et des composés bioactifs crucial pour optimiser la microencapsulation.

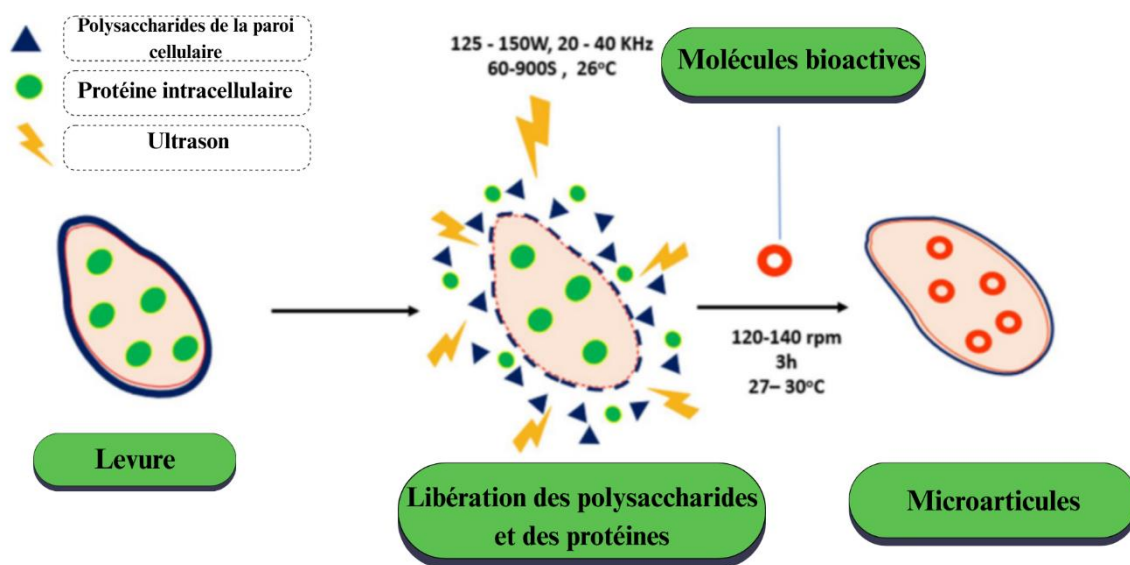


Fig. 10 : Illustration du procédé par ultrasons

2.2.6. Méthode des champs électriques pulsés (PEF)

La technologie des champs électriques pulsés (PEF) est utilisée depuis plusieurs décennies dans l'industrie alimentaire pour diverses applications telles que la conservation (Toepfl *et al.*, 2007) et l'extraction de composés végétaux (Lopez *et al.*, 2009 ; Puértolas *et al.*, 2013 ; López *et al.*, 2008). Elle repose sur l'application de courtes impulsions électriques à un matériau placé entre deux électrodes, générant un champ électrique dont l'intensité dépend de la tension et de la distance entre électrodes (Puértolas *et al.*, 2012).

Chez les levures, le traitement PEF induit une augmentation de la perméabilité cellulaire en modifiant la paroi et les membranes, facilitant ainsi la diffusion des solutés (Ganeva *et al.*, 2014). Stirke *et al.* (2019) ont observé des altérations structurales et une récupération membranaire post-traitement via l'absorption de TPP^+ . Selon Puértolas *et al.* (2012), des

champs faibles à modérés (1–10 kV/cm) et des durées variant de 100 à 10 000 μ s influencent l'osmose cellulaire. **Dimopoulos *et al.* (2021)** ont montré, par microscopie électronique, que le PEF appliqué à 107 kJ/kg permettait la formation de pores dans les levures, tout en maintenant l'intégrité de la paroi, améliorant ainsi la diffusion et l'efficacité de la microencapsulation des huiles essentielles comme l'origan. Cette technique permet un encapsulage plus rapide à des températures ou durées réduites, bien que sa mise en œuvre à grande échelle reste complexe et nécessite une adaptation fine des paramètres selon le composé bioactif ciblé.

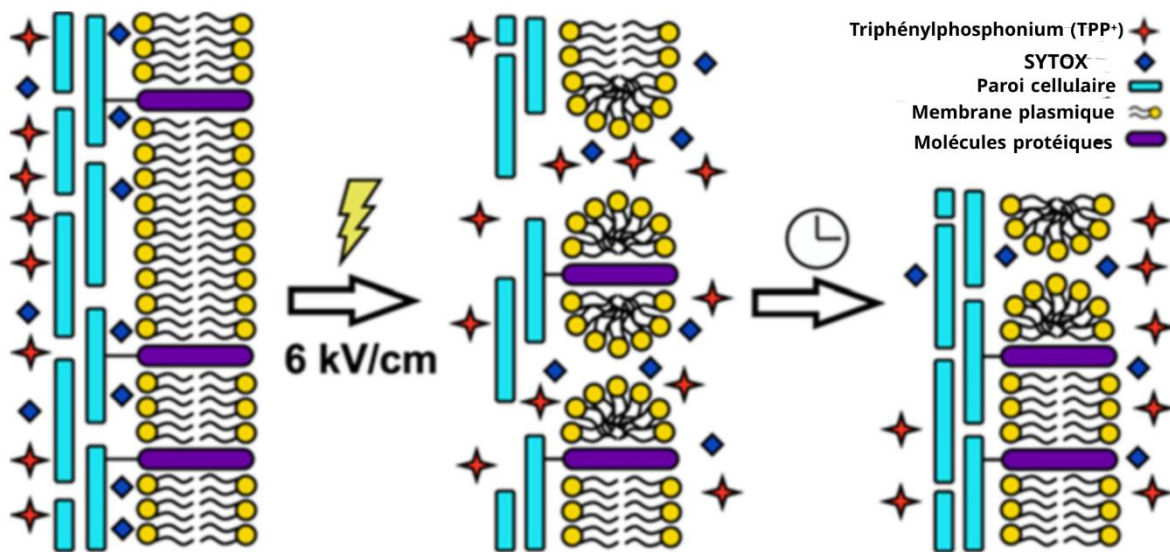


Fig. 11 : Vue schématique de la paroi cellulaire et du rescilage de la membrane cellulaire après traitement par champ électrique pulsé (PEF) (Stirke *et al.*, 2019)

3.Efficacité de la microencapsulation

La stabilité des composés bioactifs est cruciale pour garantir leurs bienfaits, ce qui nécessite une évaluation approfondie après encapsulation, notamment concernant leur résistance à la chaleur, à l'oxydation, leur conservation et leur libération dans les conditions gastro-intestinales.

3.1 Stabilité thermique

La stabilité thermique est particulièrement importante, car ces composés sont souvent sensibles à la chaleur, qui peut entraîner leur dégradation ou inactivation. Cependant, la microencapsulation dans des cellules de levure réduit significativement ces effets. **Paramera *et al.* (2011b)** ont démontré que la levure offre une meilleure protection thermique à la curcumine entre 100 et 200 °C, comparée à la β -cyclodextrine et à l'amidon modifié. De même,

Normand *et al.* (2005) ont montré que la paroi cellulaire de levure reste stable jusqu'à 263 °C et protège efficacement le limonène encapsulé.

Young *et al.* (2019) ont rapporté que les cellules de levure plasmolysées protègent la curcumine contre la dégradation à 70 °C pendant 30 minutes et à 90 °C pendant 1 minute, grâce à des modifications structurales qui favorisent la liaison à la curcumine. Par ailleurs, **Lieu *et al.* (2020)** ont montré qu'une combinaison de traitements à l'éthanol et aux ultrasons réduit les pertes thermiques des anthocyanes lors de leur encapsulation.

Ces études suggèrent que les cellules de levure améliorent notablement la résistance thermique des composés bioactifs microencapsulés.

3.2. Stabilité des composés bioactifs durant le stockage

La stabilité des composés bioactifs durant le stockage est cruciale pour maintenir leurs propriétés fonctionnelles. Les cellules de levure agissent comme une barrière protectrice, améliorant la conservation des composés encapsulés face aux agressions extérieures.

Shi *et al.* (2007) ont montré que les microcapsules d'acide chlorogénique protègent efficacement contre l'humidité et la lumière, avec une conservation supérieure à 98 %. De même, la curcumine microencapsulée dans les cellules de levure présente une durabilité multipliée par 5,5 à 32,8 % d'humidité relative, et une stabilité doublée même à des humidités élevées (65,4–90 %) par rapport à la curcumine non encapsulée.

Karaman (2020) a rapporté une amélioration notable de la stabilité thermique, hygrométrique et lumineuse de la thymoquinone encapsulée dans des levures plasmolysées, avec une réduction significative de sa dégradation à 65 °C. **Paramera *et al.* (2011)** ont également observé une augmentation par 2,6 de la stabilité optique de la curcumine après encapsulation.

La stabilité de l'huile de poisson a été renforcée après 30 jours de stockage grâce à une encapsulation par autolyse (**Czerniak *et al.*, 2015**). **Sultana *et al.* (2018)** ont attribué la protection contre l'oxydation des arômes sur deux mois principalement aux mannoprotéines et β -glucanes de la paroi de levure. Cependant, certains composés, comme les anthocyanes, peuvent être dégradés par des enzymes intracellulaires. **Nguyen *et al.* (2018)** ont montré qu'à 37 °C, la perte de couleur des anthocyanes passe de 36,5 % dans des cellules normales à seulement 2,5 % après un traitement thermique inhibant ces enzymes. Ces résultats confirment que la microencapsulation dans les cellules de levure améliore significativement la stabilité des composés bioactifs, sous réserve d'optimiser les conditions de stockage (température, humidité, lumière) et de choisir la méthode d'encapsulation appropriée afin de préserver au mieux les propriétés biologiques.

3.4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est un critère fréquemment utilisé pour évaluer la valeur fonctionnelle des composés bioactifs. Une étude antérieure a montré que l'activité antioxydante du resvératrol a été maintenue, voire améliorée après microencapsulation dans des cellules de levure plasmolysées (**Shi et al., 2008**).

L'activité piègeuse des radicaux DPPH du resvératrol est passée de 27,37 % à $63,35 \pm 0,31$ % avec une augmentation de la concentration de 10,18 à 31,21 $\mu\text{g/mL}$ après microencapsulation (**Shi et al., 2008**).

Cependant, **Karaman (2020)** a montré que l'activité antioxydante des cellules plasmolysées était inférieure à celle des cellules non plasmolysées, en raison d'une perte des composants antioxydants des cellules pendant le processus de plasmolyse, après 8 jours de stockage.

Cela indique que l'efficacité de la protection dépend du type de composé bioactif encapsulé et de la technique de microencapsulation utilisée.

3.5. Solubilité

La faible solubilité de certains composés spécifiques (huiles essentielles, vitamines liposolubles, acides gras, etc.) constitue un frein majeur à leur application dans les technologies alimentaires. L'amélioration de leur solubilité est donc l'un des objectifs principaux de la microencapsulation.

Lorsque les microcapsules sont introduites dans une solution, elles subissent une désintégration, suivie d'une dissolution progressive, influencée par des facteurs tels que la solubilité du noyau, la taille des particules, et les propriétés hydrophiles ou hydrophobes (**Dadkhodazade et al., 2021**). Des études ont montré que l'encapsulation dans des cellules de levure améliore la solubilité des composés bioactifs. **Shi et al. (2008)** ont montré que le resvératrol encapsulé avait une solubilité dans l'eau à 25 °C deux fois supérieure à celle du resvératrol liquide, et trois fois plus élevée que le resvératrol sous forme cristalline. De même, la solubilité de la curcumine a été significativement améliorée par microencapsulation dans les cellules de levure (**Paramera et al., 2011**).

Ces résultats montrent que l'encapsulation de composés hydrophobes dans des cellules de levure permet de contourner leur faible solubilité, augmentant ainsi leur potentiel d'application dans divers secteurs industriels.

4. Capacité de libération dans les sites cibles et l'environnement digestif

Les bienfaits pour la santé des composés bioactifs ne sont atteints que lorsqu'ils sont libérés aux sites cibles. En général, les sites de libération de ces composés se situent dans le tractus gastro-intestinal. Les microcapsules préparées à partir de cellules de levure ont la capacité de

réguler la libération du matériau central, assurant une libération prolongée vers la cible (**Dadkhodazade *et al.*, 2021**).

Shi *et al.* (2007) ont indiqué que plus de 95 % de l'acide chlorogénique était libéré en deux heures et complètement libéré en cinq heures dans un liquide digestif simulé. Cela suggère que les cellules de levure n'affectent pas la libération du composé.

Une autre étude de **Shi *et al.* (2008)** a montré qu'environ 90 % du resvératrol étaient libérés en 90 minutes dans un liquide gastrique simulé lorsqu'il était microencapsulé par des cellules de levure, réduisant ainsi la faible biodisponibilité du resvératrol.

De même, **Dadkhodazade *et al.* (2018)** ont montré que les cellules de levure pouvaient aider à une libération prolongée du cholécalciférol dans l'environnement gastrique et une libération presque complète dans l'environnement intestinal lorsque le taux de libération atteignait 97,9 %. Cette libération était bénéfique pour augmenter la biodisponibilité du cholécalciférol dans l'intestin grêle, lorsque les graisses lipophiles comme le cholécalciférol peuvent traverser les cellules intestinales et entrer dans la circulation sanguine.

Cela montre que les microcapsules sont libérées de manière contrôlée, se produisant lentement et étant hautement solubles dans des conditions de liquide gastrique et intestinal simulés. Cet effet facilite l'action des composés bioactifs, augmente leur capacité d'absorption et évite leur élimination trop rapide, ce qui permet de mieux exploiter les bénéfices que ces substances actives apportent à l'organisme.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

La plante utilisée dans cette étude est *Pulicaria odora*, appartenant à la famille des Astéracées. Elle est connue pour ses propriétés médicinales, notamment ses effets antioxydants et anti-inflammatoires. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'impact de l'encapsulation des composés phénoliques dans des cellules de levure sur leur teneur et sur l'activité antioxydante de *Pulicaria odora*. Dans le cadre de ce travail, les feuilles et les racines ont été sélectionnées en tant que parties d'intérêt, puis récoltées le 25 février 2025 dans la région de Louloudj (Skikda). Après la cueillette, les échantillons ont été soigneusement rincés à l'eau du robinet afin d'éliminer tous les débris, avant d'être placés dans des sacs en plastique propres et transportés au laboratoire.



Figure 12 : plante *Pulicaria odora*

2. Méthodologie

2.1. Extraction

Les polyphénols ont été extraits par macération selon la méthode décrite par **Xiang et Nasee (2018)**, avec quelques ajustements. Après la récolte du *Pulicaria odora*, les différentes parties de la plante, tant aériennes (les feuilles) que souterraines (les racines), sont soigneusement lavées à l'eau du robinet pour éliminer toute impureté présente. Une fois nettoyées, une quantité suffisante des parties végétales (feuilles et racines) sont coupées en petits morceaux. Ces morceaux sont ensuite placés dans un mortier, où ils sont broyés avec une quantité adéquate d'éthanol (200ml) pour obtenir un mélange homogène.

Le mélange broyé est ensuite transféré dans un bécher contenant 800 ml d'éthanol, veillant à ce que les morceaux soient complètement immergés. Le bécher est ensuite couvert de papier aluminium afin de protéger l'extrait de la lumière et est placé dans un environnement propre, à

l'abri de la lumière, pendant une période de 24 heures pour permettre une extraction complète des polyphénols.

Après cette période de macération, l'extrait est filtré pour séparer les résidus solides du liquide. Le solvant (éthanol) est ensuite éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif, ce qui permet de concentrer l'extrait. Enfin, les extraits concentrés ont été récupérés et soumis à un séchage dans une étuve, maintenue à une température constante de 40°C.

2.2. Microencapsulation des composés phénoliques

2.2.1. Préparation de la souche de levure

Dans cette étude, la levure *Saccharomyces cerevisiae* a été cultivée sur des boîtes de Pétri contenant un milieu Sabouraud, à une température de 30 °C pendant 48 heures. À l'issue de cette incubation, les cellules obtenues ont été utilisées pour ensemercer un milieu liquide de bouillon nutritif, ajusté à une densité optique de 0,2 mesurée à 600 nm. Les cultures ont ensuite été incubées à 30 °C pendant 3 jours. Après la croissance, les cellules ont été récupérées par centrifugation à 6000 tours par minute pendant 10 minutes. (Nguyen *et al.*, 2018).

2.2.2. Plasmolyse des souches de levures

40 grammes de levure ont été dissous dans 500 ml d'une solution de Na Cl à 10 %. Ce mélange a ensuite été soumis à une plasmolyse pendant 24 heures à 55 °C. À l'issue de cette étape, les cellules ont été séparées du surnageant par centrifugation à 2000 g pendant 10 minutes. Le culot obtenu a été lavé à l'eau distillée, puis agité à température ambiante pendant une heure afin d'éliminer Na Cl. Cette étape de lavage suivie d'une centrifugation a été répétée deux fois. Enfin, les cellules purifiées ont été soumises à une lyophilisation (Kurek *et al.*, 2023).

2.2.3. Microencapsulation des composés phénoliques

L'encapsulation des composés phénoliques a été effectuée à l'aide de cellules de levure intactes ou plasmolysées, dans un système aqueux. Un rapport massique de 5 :1 (levure/extrait) a été respecté, avec un hydromodule fixé à 1 :100. Le mélange a été incubé sous agitation constante à 200 rpm dans un agitateur thermostatique, maintenu à 37 °C pendant 24 heures. À la fin de l'incubation, l'efficacité d'encapsulation a été déterminée selon la méthode décrite par Kalinina *et al.* (2022).

2.2.4. Observation microscopique des microcapsules

L'observation microscopique des extraits phénoliques encapsulés a été réalisée afin d'évaluer leur distribution et leur interaction avec les cellules de levure. Deux types de microcapsules ont été utilisés : extraits encapsulés dans des levures intactes et des extraits encapsulés des levures plasmolysées. Les échantillons ont été préparés en déposant une goutte de la suspension sur une lame de microscope, puis recouverts d'une lamelle couvre-objet. Les observations ont été

effectuées à l'aide d'un microscope optique à un grossissement de 100x. Cette analyse a permis de visualiser la répartition des extraits encapsulés à la surface ou à l'intérieur des cellules, ainsi que d'évaluer les différences morphologiques entre les levures intactes et plasmolysées en termes de capacité d'encapsulation.

2.2.5. Efficacité d'encapsulation

L'efficacité d'encapsulation a été évaluée afin de mesurer la capacité des cellules de levure, intactes ou plasmolysées, à encapsuler les composés phénoliques. Pour cela, 0,2 g de poudre ont été extraits dans 2 ml d'un mélange d'éthanol, d'acide acétique et d'eau (50 :8 :42, v/v/v), suivi d'une agitation de 30 minutes à température ambiante. La séparation des phases a été réalisée par centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes. Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes ont été quantifiées par spectrophotométrie (Robert *et al.*, 2010 ; Kalinina *et al.* (2022).

L'efficacité d'encapsulation (EE) a été calculée selon la formule suivante :

$$EE(\%) = \frac{TPE}{TPT} \times 100$$

TPE : représente la concentration totale des composés phénoliques (polyphénols ou flavonoïdes) effectivement encapsulés dans les cellules de levure.

TPT : correspond à la concentration initiale en composés phénoliques (polyphénols ou flavonoïdes) présente dans l'extrait avant encapsulation (Cegledi *et al.*, 2022).

2.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux dans les extraits végétaux est couramment réalisée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. En présence de composés phénoliques, ce réactif est réduit, formant des complexes d'oxydes de tungstène et de molybdène de couleur bleue. L'intensité de cette coloration, mesurée entre 725 et 750 nm, est proportionnelle à la concentration en polyphénols. Dans le cas des extraits de *Pulicaria odora*, 2 ml d'extrait sont mélangés avec 0,2 ml du réactif de Folin-Ciocalteu, puis 1,4 ml de carbonate de sodium (Na₂ CO₃) à 7,5 % (m/v) sont ajoutés. Le mélange est incubé pendant 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-1800 (Shimadzu). Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimées en milligrammes équivalents acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES), en se référant à une courbe

Matériel et méthodes

d'étalonnage obtenue avec des concentrations d'acide gallique comprises entre 0 et 1 mg/mL (Waterhouse, 1999).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été réalisée selon la méthode décrite par Chang *et al.* (2002), avec quelques modifications. Cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable entre les ions aluminium (Al^{3+}) et les groupes hydroxyles des flavonoïdes, en particulier au niveau des carbones 4 et 5. Ce complexe, de couleur jaune, présente une absorption maximale à 415 nm.

Pour l'analyse des extraits de *Pulicaria odora*, 0,2 ml de l'extrait sont mélangés à 1,72 ml d'éthanol à 96 %, 0,4 ml de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10 %.

Le mélange est agité, puis incubé à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. L'absorbance est ensuite mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-1800 (Shimadzu).

Les concentrations en flavonoïdes totaux sont exprimées en milligrammes équivalents quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES), en se basant sur une courbe d'étalonnage réalisée avec des solutions standards de quercétine.

2.4. Analyse FTIR

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier en mode réflexion totale atténuée (ATR-FTIR) a été employée pour l'analyse des extraits de *Pulicaria odora* avant et après encapsulation. Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre FTIR Cary 600, équipé d'un accessoire MIRacle™ ATR à réflexion unique avec un cristal de diamant (IRE) fourni par PIKE Technologies. Différents échantillons ont été examinés, notamment les extraits phénoliques non encapsulés, les cellules de levure, ainsi que les extraits encapsulés dans des cellules de levure intactes et plasmolysées. Les spectres ont été obtenus en moyennant 32 scans, sur une gamme spectrale de 4000 à 400 cm^{-1} , avec une résolution de 4 cm^{-1} (Sala *et al.*, 2020).

2.5. Effet de la microencapsulation sur l'activité antioxydante

L'impact de la microencapsulation sur le potentiel antioxydant des extraits de *Pulicaria odora* a été évalué en appliquant deux méthodes spectrophotométriques reconnues : ABTS (2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) et la méthode de réduction de la phénanthroline.

2.5.1. Méthode ABTS

Cette méthode repose sur la capacité des composés antioxydants à neutraliser le radical cationique $ABTS^{\bullet+}$, ce qui entraîne l'apparition d'une coloration bleu-vert mesurable par spectrophotométrie. Le radical $ABTS^{\bullet+}$ est généré par oxydation de l'ABTS, un sel

Matériel et méthodes

d'ammonium dérivé de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline) -6-sulfonique, initialement incolore.

La formation de ce radical se déroule en deux étapes. Dans un premier temps, le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) oxyde une molécule d'ABTS en arrachant un électron à l'un de ses atomes d'azote, générant ainsi le radical $ABTS^{\bullet+}$. Ensuite, en présence d'un antioxydant capable de céder un proton (H^+), le radical réagit pour former $ABTSH^+$, entraînant une diminution de l'intensité de la coloration (**Re et al., 1999**).

Pour la préparation de la solution mère d'ABTS, 19,2 mg d'ABTS et 3,3 mg de $K_2S_2O_8$ sont dissous dans 5 ml d'eau distillée. Le mélange est incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 16 heures afin de permettre la formation du radical $ABTS^+$. La solution mère est ensuite diluée avec de l'eau distillée jusqu'à obtention d'une absorbance comprise entre 0,7 et 1 à 734 nm, conformément à la méthode décrite par **Re et al. (1999)**.

Pour le test, 1 ml de la solution d'ABTS a été ajouté à chaque tube contenant les solutions filles d'extraits de plante aux différentes concentrations (comprises entre 0 et 1 mg/mL). Les mélanges ont été incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis les absorbances ont été mesurées à 734 nm.

L'activité antioxydante a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \frac{([\text{absorbance du contrôle} - \text{absorbance de l'échantillon}])}{\text{absorbance du contrôle}} \times 100$$

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS ont été évalués en fonction des concentrations d'extrait afin de déterminer l'indice IC_{50} qui correspond concentration d'un composé provoquant 50 % d'inhibition d'une activité mesurée ; elle traduit l'efficacité d'une molécule (plus l' IC_{50} est basse, plus l'efficacité est grande). Les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec les antioxydants de référence, à savoir le BHA et le BHT.

2.5.2. Méthode de la réduction de phénanthroline

L'activité réductrice a été évaluée selon la méthode à la phénanthroline, décrite par **Szydłowska-Czerniak (2008)**. Un volume de 1ml d'extrait, à différentes concentrations (0-1mg/ml), a été mélangé avec 5ml de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,2 %, 3 ml de phénanthroline à 0,5 % et 11 ml de méthanol. Le mélange obtenu a été incubé à température ambiante, à l'obscurité, pendant 20 minutes. Après incubation, l'absorbance de la solution, de couleur orange-rouge, a été mesurée à 510 nm. Les standards utilisés étaient le BHA et le BHT. Les résultats ont été exprimés en $A_{0.5}$ (mg/ml), correspondant à la concentration nécessaire pour obtenir une absorbance de 0,50.

2.6. Analyse statistique

Les moyennes et l'écart-type des trois répétitions, ainsi que les représentations graphiques, ont été calculés à l'aide d'Excel 2013 (Microsoft Excel Version 3. 2013, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA). Un test ANOVA à un facteur, suivi du test Post hoc de Tukey, a été réalisé avec le logiciel Minitab® (Minitab Statistical Software for Windows, version 19.1.1.0, Minitab, LLC, 1829 Pine Hall Road, State College, PA, USA) pour comparer les moyennes obtenues. Les lettres en exposant (a, b, c, d) indiquent des différences significatives au seuil de 0,05. Les spectres FTIR ont été tracés à l'aide du logiciel Origin Pro 2019 SR1 (version 9.61.0000, Origin Lab Corporation, Northampton, MA, USA).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Observation microscopique de l'encapsulation des extraits de *Pulicaria odora* par des cellules de levure intactes et plasmolysées

La figure (13) illustre l'observation microscopique de l'encapsulation des extraits de *Pulicaria odora* par des cellules de levure, en comparant deux états physiologiques : cellules intactes et cellules plasmolysées.

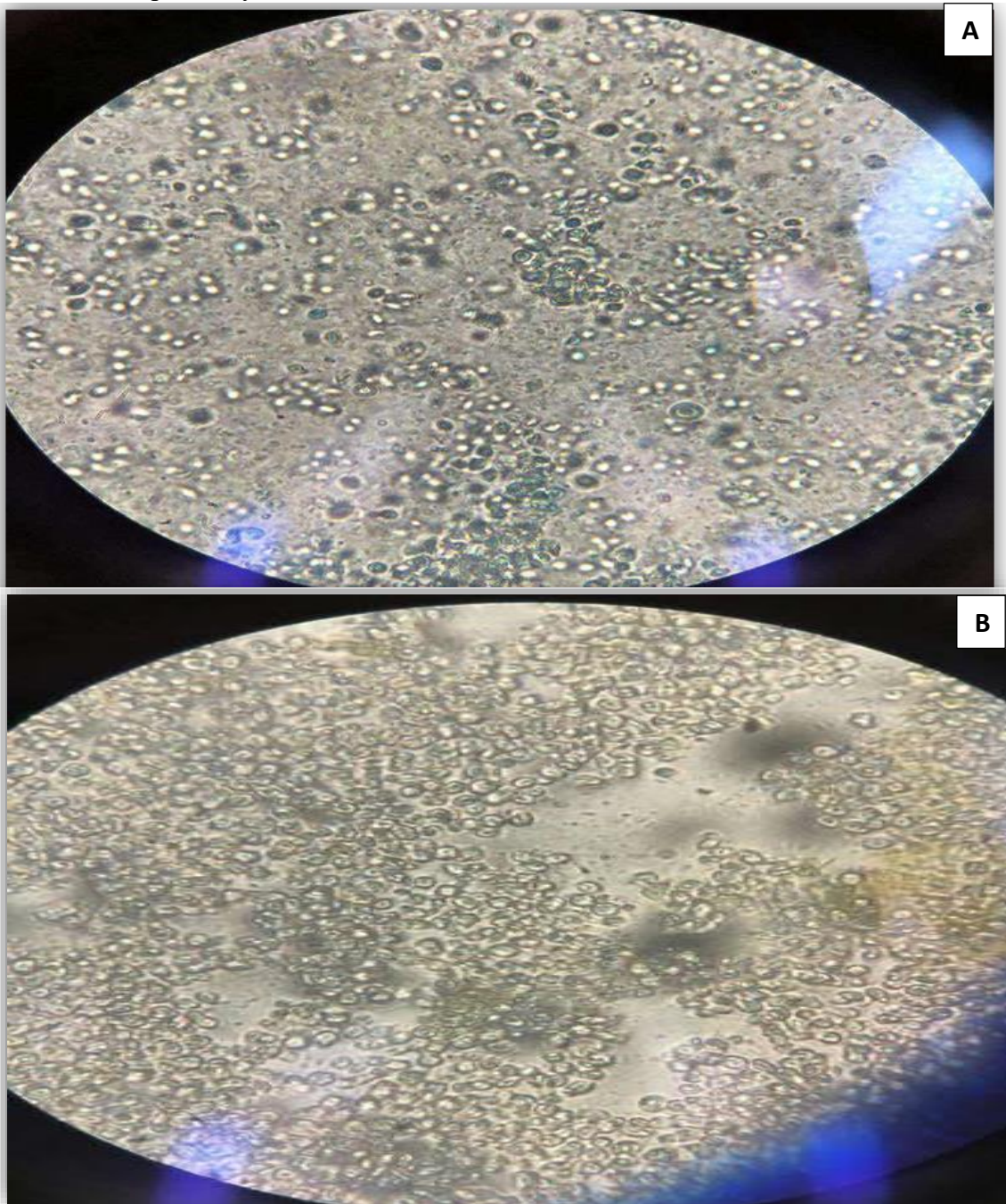


Figure 13 : Observation microscopique de l'encapsulation des extraits de *Pulicaria odora* par des cellules de levure : A) cellules intactes ; B) cellules plasmolysées.

Résultats et discussion

La micrographie optique met en évidence la capacité des cellules de levure, qu'elles soient intactes ou plasmolysées, à encapsuler les extraits bioactifs de *Pulicaria odora*. Les cellules intactes présentent une morphologie sphérique à ovoïde typique des levures, avec des contours nets, indiquant une intégrité membranaire bien conservée après l'incubation avec les extraits. Aucune lyse cellulaire ni déformation majeure n'est observée, ce qui témoigne d'une bonne compatibilité entre le matériel biologique (levures) et les composés végétaux (**Figure (13) A**). Une coloration intracellulaire diffuse est visible dans de nombreuses cellules intactes, vraisemblablement liée à l'absorption de composés pigmentés présents dans l'extrait, tels que les flavonoïdes, les phénols ou les sesquiterpènes. Ces composés semblent s'accumuler dans le cytoplasme ou à proximité des vacuoles, suggérant un mécanisme d'adsorption ou de diffusion passive suivi d'une rétention intracellulaire.

En parallèle, l'observation des cellules plasmolysées révèle une morphologie globalement sphérique, mais avec un contenu intracellulaire rétracté vers le centre, signe typique d'une plasmolyse induite par un traitement hypertonique (**Figure (13) B**). Ce phénomène crée un espace clair entre la membrane plasmique et la paroi cellulaire. Une coloration marquée au centre des cellules est nettement visible, suggérant la localisation préférentielle des extraits au niveau de la vacuole centrale. Cette observation indique que les composés bioactifs de *Pulicaria odora* ont probablement été absorbés et stockés dans cette structure interne, en accord avec le rôle physiologique de la vacuole dans le stockage et la régulation de substances chez les levures. Malgré les modifications structurales liées à la plasmolyse, l'intégrité globale des cellules est préservée, et leur densité élevée dans le champ microscopique confirme leur stabilité morphologique après traitement.

L'étude des levures *Saccharomyces cerevisiae* sous différentes conditions (intactes, plasmolysées et encapsulées) a permis de mieux comprendre l'impact du traitement par plasmolyse et de l'encapsulation végétale sur leur structure cellulaire. Les micrographies obtenues au microscope optique ont révélé des modifications morphologiques marquées en fonction des traitements subis.

Les levures intactes ont présenté une morphologie classique, caractérisée par une forme sphérique ou ovoïde régulière, une distribution homogène et un cytoplasme bien coloré. En revanche, les levures plasmolysées ont subi une rétraction notable de leur contenu cytoplasmique, observable sous forme d'un espace clair entre la paroi cellulaire et le cytoplasme, conséquence d'une perte d'eau dans un milieu hypertonique (**Korber et al., 1996**). Ce comportement est typique de cellules soumises à un stress osmotique important, pouvant affecter leur viabilité.

Selon **Coradello et Tirelli (2021)**, les cellules de levure présentent une structure multicouche, constituée d'une paroi cellulaire poreuse et d'une membrane plasmique, qui peuvent permettre l'entrée passive de composés bioactifs par diffusion. Le passage des polyphénols se fait par adsorption sur la paroi, suivie d'une diffusion à travers les pores hydratés, puis d'un équilibre de partage membranaire, à condition que ces composés soient suffisamment solubles dans les milieux aqueux et lipidiques internes. Cette capacité de pénétration est considérablement améliorée par la plasmolyse, qui affaiblit la membrane plasmique et rend la cellule plus perméable.

Ce mécanisme de diffusion passive des polyphénols à l'intérieur des levures encapsulées explique en partie la protection observée, non seulement en surface, mais également à l'intérieur de la cellule. Il est donc plausible que les extraits de *Pulicaria odora* aient partiellement pénétré les cellules plasmolysées, exerçant une activité antioxydante ou stabilisante interne.

En parallèle, les levures intactes encapsulées ont montré une bonne stabilité morphologique, traduisant un enrobage homogène. Même si la diffusion interne des composés est probablement moindre qu'en conditions plasmolysées, la présence d'une couche végétale externe semble suffisante pour assurer une protection structurelle.

L'encapsulation des levures avec des extraits de *Pulicaria odora* constitue une stratégie efficace pour préserver leur intégrité morphologique, en particulier après un stress osmotique. Les résultats montrent que les composés végétaux peuvent non seulement se fixer à la surface cellulaire, mais aussi diffuser à l'intérieur des cellules plasmolysées, contribuant à leur stabilisation. Ces observations ouvrent la voie à des applications prometteuses dans la protection des probiotiques, la libération contrôlée d'actifs, ou l'amélioration des formulations biotechnologiques.

2. Teneurs en composés phénolique de *Pulicaria odora*

2.1. Courbes d'étalonnage

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes ont été déterminées à l'aide de courbes d'étalonnage respectivement établies avec l'acide gallique, la quercétine. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière fraîche (mg EAG/g ES) pour les polyphénols totaux, et en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière fraîche (mg EQ/g ES) pour les flavonoïdes (**la figure 14**).

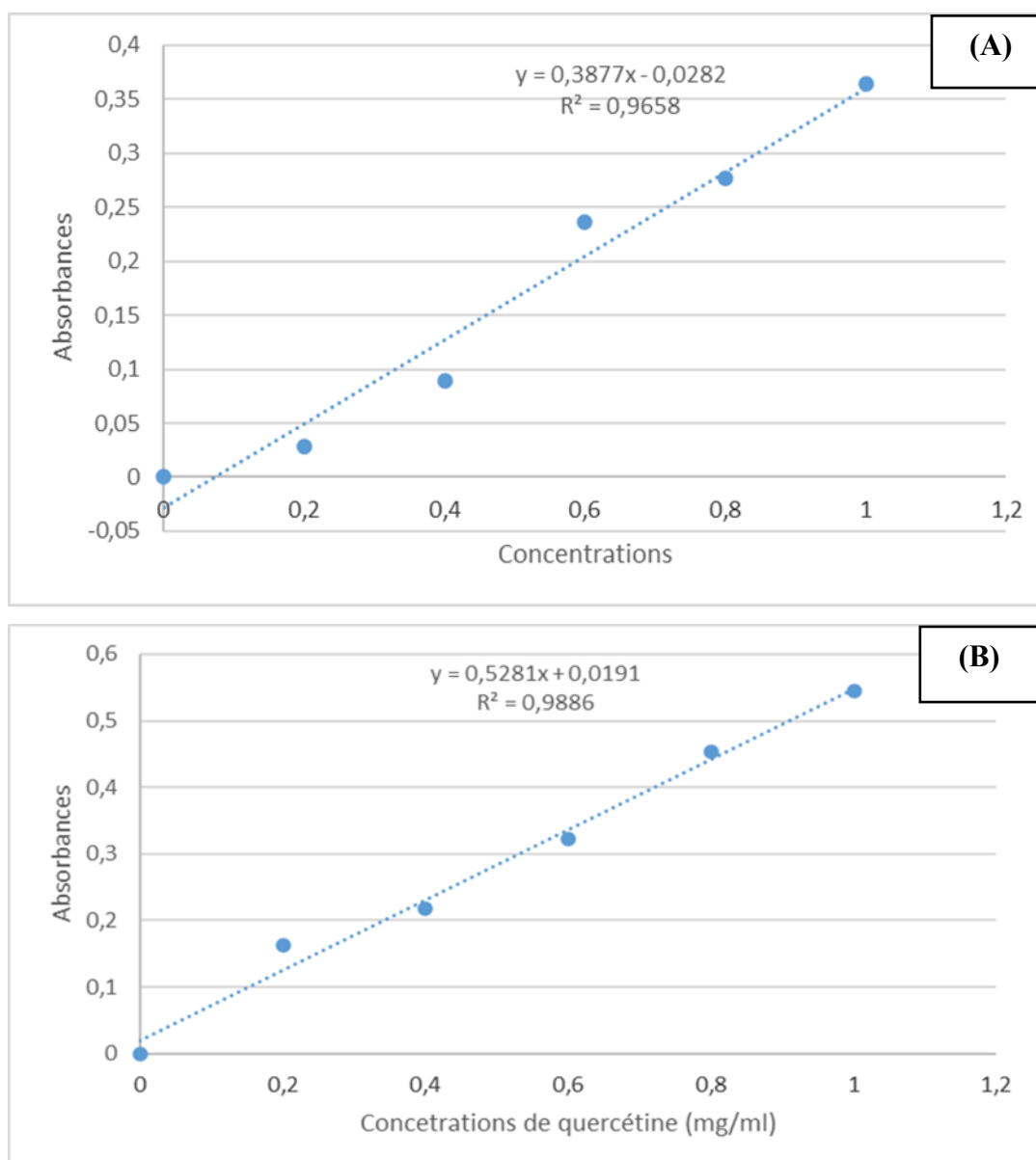


Figure 14 : Courbes d'étalonnage : A : Acide gallique, B : quercétine

2.2. L'effet de l'encapsulation sur la teneur en composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques, incluant les polyphénols totaux et les flavonoïdes, mesurées avant encapsulation ainsi qu'après encapsulation à l'aide de levures plasmolysées (LP) et de levures intactes (LI), sont présentées dans la figure ci-dessous.

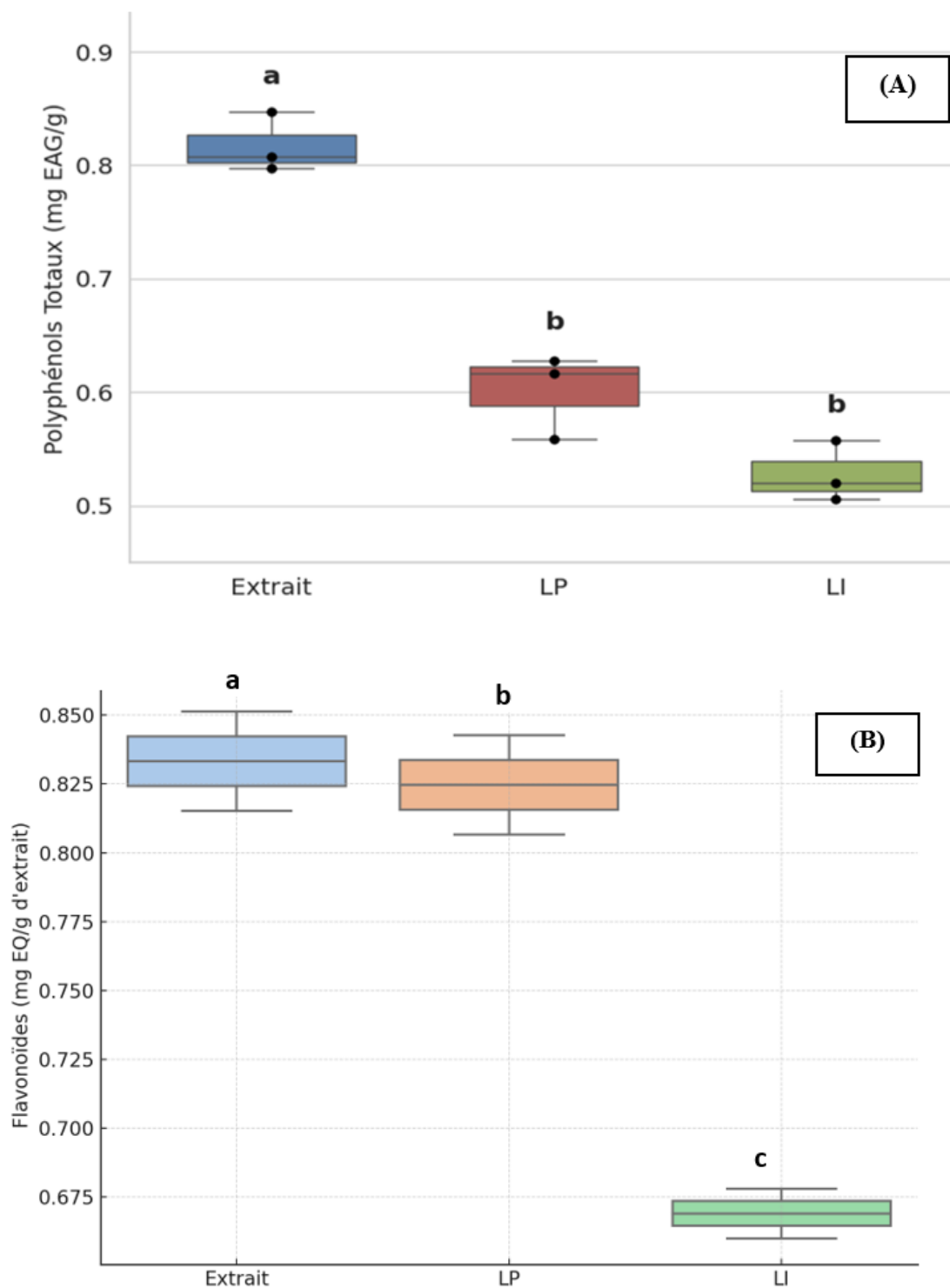


Figure 15 : Effet d'encapsulation sur la teneur en composés phénoliques : A : Polyphénols totaux, B : flavonoïdes

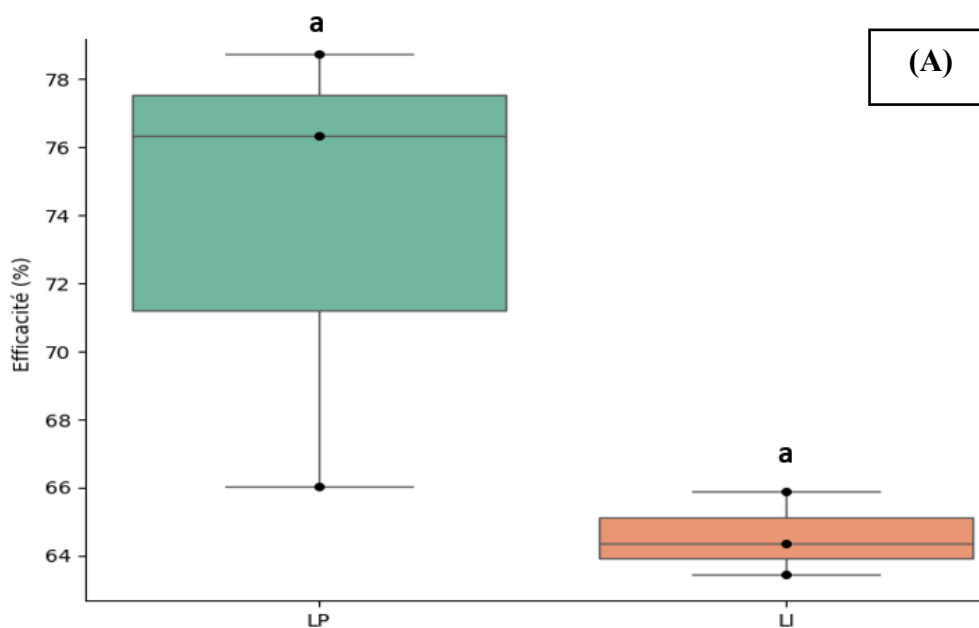
La figure 15 (A) présente les concentrations en polyphénols totaux (moyenne \pm écart-type) pour trois échantillons : extrait, levure plasmolysée (LP) et levure intacte (LI). L'analyse de variance (ANOVA) a révélé une différence hautement significative entre les teneurs en polyphénols totaux des différents échantillons ($p < 0,001$). Le test de comparaison multiple de Tukey a permis de préciser ces différences. L'extrait affiche une teneur moyenne en

Résultats et discussion

polyphénols totaux significativement plus élevée ($0,8173 \pm 0,0258$ mg EAG/g ES) que la levure plasmolysée ($0,6012 \pm 0,0371$ mg EAG/g ES) et la levure intacte ($0,5279 \pm 0,0267$ mg EAG/g ES). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les deux types de microcapsules. Ces résultats indiquent que l'extrait est nettement plus riche en composés phénoliques que les autres échantillons, tandis que la plasmolyse n'a pas significativement amélioré l'extraction des polyphénols par rapport à la levure intacte.

La figure 15 (B) illustre la concentration en flavonoïdes : extrait, levure plasmolysée (LP) et levure intacte (LI). L'extrait présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes ($0,8353 \pm 0,0004$ mg EQ/g ES), suivi de la levure plasmolysée ($0,8267 \pm 0,0004$ mg EQ/g ES), tandis que la levure intacte affiche la concentration la plus faible ($0,6699 \pm 0,0002$ mg EQ/g ES). La présence de lettres exposantes distinctes (a, b, c) souligne des différences statistiquement significatives entre les moyennes ($p < 0,05$), mettant en évidence l'effet bénéfique de la plasmolyse sur la libération des flavonoïdes.

L'évaluation de l'efficacité de l'encapsulation est illustrée par les données présentées à **la figure 16**



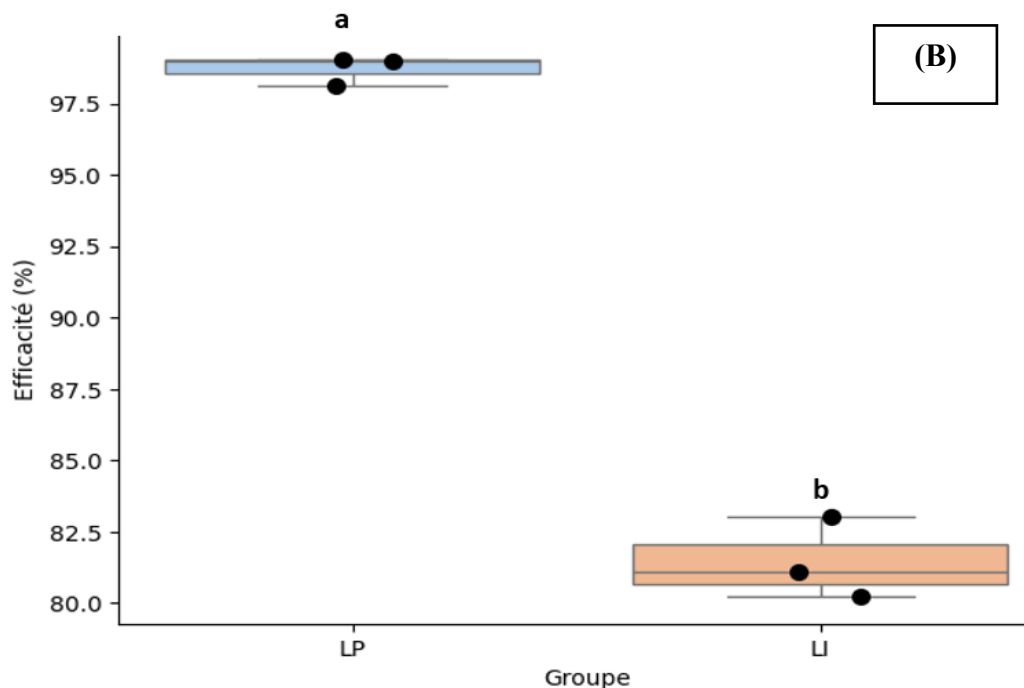


Figure 16 : Effet d'encapsulation sur la teneur en composés phénoliques : A : Polyphénols totaux, B : flavonoïdes

L'analyse de l'efficacité d'encapsulation des polyphénols totaux a révélé une différence moyenne entre les deux méthodes d'encapsulation, sans toutefois atteindre le seuil de signification statistique ($p > 0,05$). L'encapsulation LP a présenté une efficacité moyenne de $73,71 \pm 6,88 \%$, comparativement à $64,56 \pm 1,22 \%$ pour l'encapsulation LI. Par conséquent, dans les conditions expérimentales de cette étude, aucune des deux encapsulations ne peut être considérée comme significativement plus efficace que l'autre en termes de rétention des composés phénoliques (**figure 16**).

L'analyse de l'efficacité d'encapsulation des flavonoïdes a révélé une différence significative entre les deux méthodes d'encapsulation ($p < 0,05$). L'encapsulation LP a montré une efficacité moyenne élevée de $98,98 \pm 0,07 \%$, tandis que l'encapsulation LI a atteint une efficacité moyenne de $80,20 \pm 0,01 \%$. Ces résultats indiquent que l'encapsulation LP est significativement plus performante que l'encapsulation LI pour la rétention des flavonoïdes dans les conditions expérimentales étudiées.

Discussion

Les extraits de *Pulicaria odora* ont affiché des teneurs en composés phénoliques de $0,8173 \pm 0,0258$ mg EAG/g d'ES pour les polyphénols totaux et de $0,8353 \pm 0,0004$ mg EQ/g d'ES pour les flavonoïdes. Ces concentrations se révèlent nettement inférieures à celles rapportées par **Benmahammed et al. (2024)**, qui ont obtenu respectivement $2,77$ mg EAG/g d'ES et $0,70$ mg

Résultats et discussion

EQ/g d'ES. De surcroît, elles demeurent faibles en comparaison des résultats obtenus par **Saidani et al. (2023)**, dont les extraits étaient caractérisés par des teneurs significativement plus élevées, atteignant 305 mg équivalents catéchine (EC) pour les polyphénols totaux et 56 mg équivalents quercétine (EQ) pour les flavonoïdes.

La variation des résultats peut être attribuée à plusieurs facteurs. Parmi les facteurs intrinsèques figure la génétique de *Plucaria odora*, tandis que les facteurs extrinsèques incluent les conditions climatiques, le stade de maturité au moment de la récolte ainsi que les modalités de stockage. D'autres éléments, tels que la période et la saison de récolte, les techniques d'extraction employées et les protocoles de dosage, peuvent également influencer sur les résultats. Par ailleurs, la teneur en composés phénoliques varie selon la méthode d'extraction utilisée. Selon **Rahmani (2020)**, la solubilité de ces composés dépend de leur degré de polymérisation, lequel est influencé par la distribution des métabolites secondaires, les interactions avec d'autres constituants présents, ainsi que par le type de solvant utilisé.

Dans nos résultats, nous constatons qu'après l'encapsulation des levures, il y a une diminution très marquée de la quantité de polyphénols (polyphénols totaux), que ce soit dans la levure plasmolysée ($0,6012 \pm 0,0371$) ou dans la levure intacte ($0,5279 \pm 0,0267$), cela est cohérent avec les résultats de **Dames et al. (2023)**. De plus, en comparant les résultats de ces deux types de levures, on remarque qu'il n'y a pas de différences significatives entre elles, mais plutôt une réduction notable du contenu en polyphénols, et cela, contrairement aux résultats obtenus par **Faghrourr et al. (2023)**, où il semble que les extraits encapsulés dans des cellules plasmolysées présentent des concentrations de composés phénoliques (polyphénols totaux) plus élevées que ceux encapsulés dans des levures intactes. En effet, la concentration de polyphénols dans les cellules plasmolysées est d'environ $5,83 \pm 0,09$ mg EAG/g d'ES, tandis que celle des polyphénols dans les cellules intactes est d'environ $4,16 \pm 0,07$ mg EAG/g d'ES. Des études, notamment celle de **Tan et al. (2020)**, ont démontré qu'une augmentation de la concentration en NaCl jusqu'à 15 % (p/v) entraîne une diminution du rendement d'encapsulation. Ce phénomène pourrait s'expliquer par l'effet délétère d'une concentration élevée en NaCl sur la membrane des cellules de levure, ce qui entraverait la diffusion des composés phénoliques à l'intérieur de ces cellules. Dans les procédés d'encapsulation utilisant les levures, l'effet de la plasmolyse varie selon la nature du matériau à encapsuler : **Kavosi et al. (2018)** rapportent une augmentation de la capacité de charge, tandis que **Cerit (2025)** et **Karaman (2021)** constatent une diminution de l'efficacité d'encapsulation.

Cependant, une analyse ANOVA a révélé une différence significative ($p < 0,05$) entre les concentrations de flavonoïdes avant et après l'encapsulation. Les résultats ont montré une

Résultats et discussion

diminution globale de ces concentrations après le processus. Toutefois, les extraits encapsulés dans des cellules de levure plasmolysées présentaient des teneurs en flavonoïdes plus élevées que ceux encapsulés dans des levures intactes. En effet, les concentrations en flavonoïdes dans les cellules plasmolysées étaient d'environ **(0,8267 ± 0,0004 mg EQ/g ES)** contre **(0,6699 ± 0,0002 mg EQ/g ES)** dans les cellules intactes. Afin de mieux interpréter les variations observées dans les concentrations de flavonoïdes après encapsulation, l'efficacité d'encapsulation a été évaluée. Cette analyse a permis de confirmer les résultats précédents en mettant en évidence la capacité des différents matériaux de paroi, notamment les cellules de levure plasmolysées et intactes, à retenir les composés phénoliques au cours du processus. Une meilleure efficacité d'encapsulation suggère une protection plus efficace des flavonoïdes, ce qui peut expliquer les différences de concentration observées entre les échantillons. En effet, nous avons constaté que les cellules de levure plasmolysées présentaient une efficacité d'encapsulation plus élevée (98,97%) que les cellules intactes (80,20%), ce qui rejoint les observations de **Faghrourr *et al.* (2023)**.

La plasmolyse est une méthode couramment utilisée pour améliorer la capacité de chargement des cellules de levure dans les procédés de microencapsulation. Elle repose sur l'application d'un stress osmotique, généralement induit par un milieu hypertonique tel que le NaCl, provoquant une rétraction cellulaire accompagnée de modifications structurales de la membrane plasmique et de la paroi cellulaire (**Karman *et al.*, 2020 ; Shi *et al.*, 2007 ; Lieu *et al.*, 2020 ; Dong *et al.*, 2020**). Cette rétraction réduit la surface cellulaire et entraîne une libération de composants membranaires (**Paramera *et al.*, 2011**).

La plasmolyse peut être induite par des agents chimiques (souvent NaCl), des traitements thermiques (**Nguyen *et al.*, 2018 ; Bishop *et al.*, 1998**) ou enzymatiques (**Czerniak *et al.*, 2015**), chacun contribuant à améliorer la diffusion intracellulaire des composés bioactifs. **Morris *et al.* (1986)** ont montré que, bien que le retour à un milieu isotonique puisse inverser partiellement la contraction cellulaire, les altérations internes persistent.

D'un point de vue structural, **Paramera *et al.* (2011)** ont démontré que le NaCl altère l'organisation lipidique de la membrane, augmentant sa fluidité, tout en amincissant la paroi cellulaire via une dégradation partielle des mannoprotéines et des glucanes β -1,4 et β -1,6. **Karman (2020)** a observé que les cellules plasmolysées présentent une surface légèrement rétractée, contrairement aux cellules intactes à surface lisse et homogène. Ces modifications favorisent la microencapsulation.

En termes d'efficacité, **Karman (2020)** a rapporté un taux d'absorption d'huiles de 29,98 % pour les cellules plasmolysées contre 19,59 % pour les cellules non traitées. **Shi *et al.* (2007)**

Résultats et discussion

ont observé que l'encapsulation de l'acide chlorogénique pouvait doubler après plasmolyse, tandis que **Dong *et al.* (2020)** ont noté une amélioration significative de l'encapsulation des anthocyanes avec 10 % de NaCl. **Nguyen *et al.* (2018)** ont également mis en évidence l'effet de la teneur en eau sur la perméabilité cellulaire, les cellules humides étant plus perméables aux anthocyanes que les cellules sèches. Enfin, **Bishop *et al.* (1998)** ont montré que la perte de viabilité cellulaire n'affecte pas la capacité d'encapsulation des huiles essentielles, car le processus repose sur une diffusion passive.

Cependant, l'efficacité globale de la plasmolyse demeure modérée, en raison de cette diffusion passive. Elle est donc souvent combinée à d'autres méthodes telles que l'émulsification (**Karman, 2020 ; Kavosi *et al.*, 2018**), l'utilisation d'éthanol et d'ultrasons (**Lieu *et al.*, 2020**), le séchage par pulvérisation (**Sultana *et al.*, 2017**) ou la lyophilisation (**Shi *et al.*, 2007**).

En résumé, bien que simple à mettre en œuvre, la plasmolyse est principalement utilisée comme traitement préliminaire afin d'augmenter l'efficacité de la microencapsulation avant l'application de techniques complémentaires (**Dong *et al.*, 2024**).

2.3 Analyse FTIR des extraits avant et après encapsulation

Les résultats de l'analyse FTIR sont présentés dans la figure

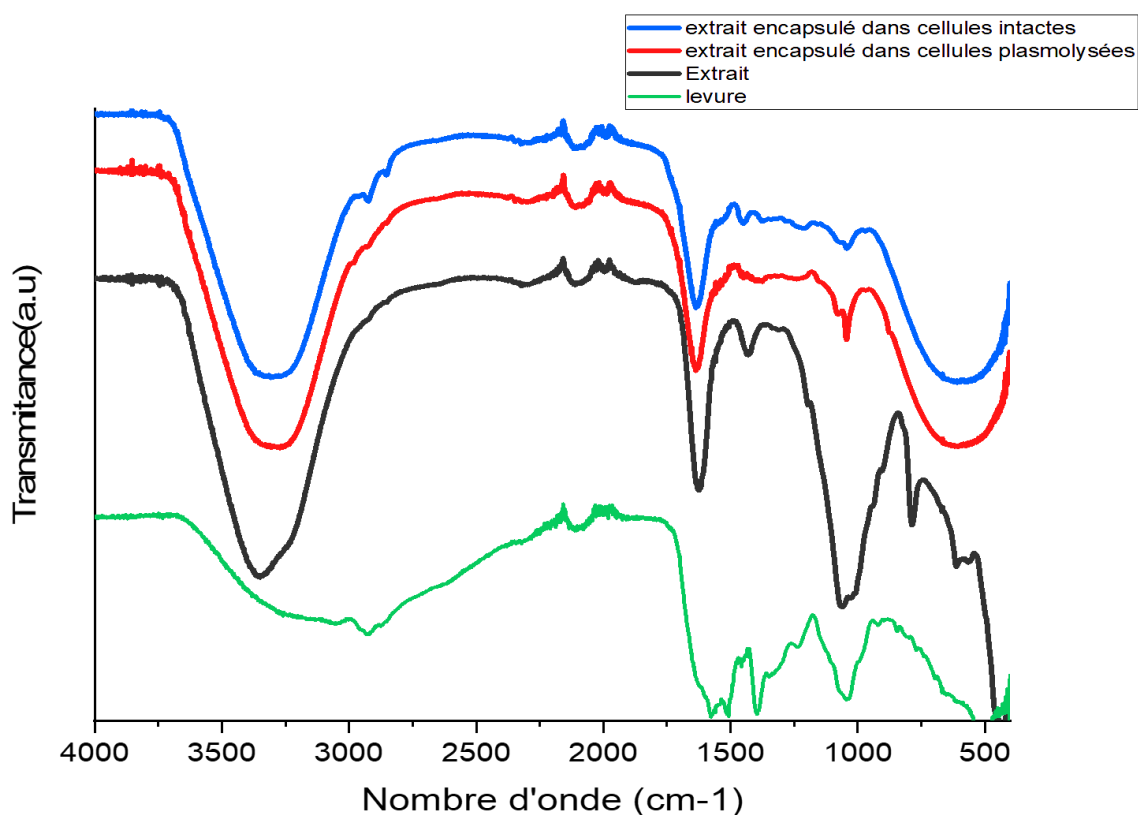


Figure 17 : Spectres FTIR des extraits avant et après encapsulation.

Résultats et discussion

Les spectres FTIR de *Saccharomyces cerevisiae* ont révélé des régions bien définies correspondant à des vibrations spécifiques des constituants cellulaires : les protéines (amide I autour de 1600 cm^{-1} et amide II entre $1480\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$), les acides nucléiques ($1180\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$), les glucides ($1080\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$) et les lipides ($2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$), ainsi qu'une large bande entre $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ attribuée à l'élongation NH des protéines (Szeghalmi *et al.*, 2007 ; Saulou *et al.*, 2010 ; Cheeseman *et al.*, 2021). Il reste cependant difficile de différencier les composants cytoplasmiques de ceux de la paroi cellulaire. Le spectre FTIR de l'extrait polyphénolique présentait des bandes caractéristiques : OH ($3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$), C=O ($1650\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$), C=C ($1500\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$) et C–O ($1000\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$), témoignant de la présence de groupes hydroxyles, carbonyles, aromatiques et éthers. Après encapsulation, des modifications spectrales notables ont été observées : disparition des bandes entre $500\text{--}900\text{ cm}^{-1}$, apparition de nouvelles liaisons, et une bande large à 3342 cm^{-1} correspondant probablement au chevauchement des vibrations NH des protéines de levure et OH des polyphénols, suggérant la formation de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes entre l'extrait et la cellule (Paramera, 2011). Les bandes amide I et II à 1657 et 1537 cm^{-1} semblent également être superposées aux vibrations aromatiques des polyphénols (Larionova *et al.*, 1999 ; Ci *et al.*, 2002). Ces modifications – changements de forme, d'intensité et disparition des bandes spécifiques aux polyphénols – confirment l'encapsulation effective des composés phénoliques dans les cellules de levure, probablement par interactions avec les protéines et polysaccharides cellulaires (Semouma *et al.*, 2024).

3. Effet de l'encapsulation sur l'activité antioxydante des extraits de *Plucaria odora*

L'activité antioxydante a été mesurée en recourant à deux méthodes : ABTS et Phénanthroline. Les résultats de la méthode ABTS sont exprimés en IC_{50} (mg/ml), représentant la concentration requise pour inhiber 50 % de l'activité radicalaire. Quant à la méthode Phénanthroline, les résultats sont exprimés en $A_{0.5}$ (mg/ml), définie comme la concentration nécessaire pour atteindre une absorbance de 0,5. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau suivant.

Résultats et discussion

Tableau 02 : Activité antioxydante par la méthode ABTS et Phénanthroline.

	IC50 ± Écart -type (mg/ml) ABTS	A _{0.5} ± Écart-type (mg /ml) Phénanthroline
Extrait	1.680 ± 0.002 ^a	0,950 ± 0,001 ^b
Levure plasmolysée	1.028 ± 0.001 ^b	1,134 ± 0,001 ^a
Levure intacte	1.028 ± 0.001 ^b	0,945 ± 0,001 ^b

Les résultats des tests antioxydants par ABTS et phénanthroline révèlent des variations significatives de l'activité antioxydante selon le type de traitement.

Le test ABTS montre que l'activité antioxydante, exprimée par l'IC50, est significativement plus élevée pour la levure plasmolysée (LP) et la levure intacte (LI), qui affichent une IC50 de 1.028 ± 0.001 mg/ml, comparativement à l'extrait seul (1.680 ± 0.002 mg/ml). Les lettres exposées indiquent une différence statistiquement significative entre l'extrait (a) et les deux types de levure (b), sans distinction significative entre LP et LI. En revanche, les résultats du test de la phénanthroline indiquent une activité antioxydante plus faible pour LP, avec une valeur de A_{0.5} de $1,134 \pm 0,001$ mg/ml, significativement plus élevée que celles de l'extrait ($0,950 \pm 0,001$ mg/ml) et de LI ($0,945 \pm 0,001$ mg/ml), qui ne diffèrent pas significativement entre eux. Ces observations suggèrent que l'efficacité antioxydante varie en fonction du test utilisé et de la forme de levure appliquée, qu'elle soit encapsulée ou non.

Les résultats du test ABTS sont en accord avec ceux rapportés par **Kerrou et al. (2023)** ainsi que **Boudeghdegh et al. (2023)**, où l'encapsulation a permis une amélioration significative de l'activité antioxydante, sans différence notable entre les microcapsules à base de levures intactes et celles plasmolysées. Ces observations confirment le rôle potentiel de la levure en tant que vecteur d'encapsulation efficace pour les composés phénoliques, comme l'ont également mentionné **Gümüşay et al. (2025)**. Par ailleurs, **Vieira et al. (2016)** ont montré que l'extrait lyophilisé de levure de bière usagée est particulièrement riche en protéines, en vitamines du groupe B et en minéraux essentiels. Il présente une activité antioxydante élevée et contient des composés phénoliques bioactifs tels que l'acide gallique et la catéchine. Il a également été démontré que le genre *Saccharomyces* est capable d'absorber les composés phénoliques présents dans son environnement, ce qui entraîne une augmentation de sa capacité antioxydante ainsi que de sa teneur en composés phénoliques.

Résultats et discussion

Dans une étude sur les performances antioxydantes des levures, des extraits de levure ont été incorporés dans des hamburgers, et il a été constaté que ces extraits inhibaient la formation de substances réactives à l'acide thiobarbiturique dans les échantillons (**Wang et Xiong, 2005**).

Selon **Jensen et al. (2004)**, cette activité antioxydante repose sur divers mécanismes enzymatiques, faisant intervenir des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase, qui participent à la neutralisation des radicaux libres via des réactions de détoxification. Des études expérimentales ont démontré que les β -glucanes et les mannanes dérivés de levures améliorent significativement l'activité antioxydante des formulations encapsulées (**Guo et al., 2019**).

Les résultats du test à la phénanthroline ont montré que l'extrait ainsi que la levure intacte présentaient une activité antioxydante élevée, sans différence significative entre les deux. En revanche, l'activité antioxydante observée dans l'échantillon contenant la levure plasmolysée était nettement plus faible par rapport aux deux autres. Ces résultats contrastent avec ceux rapportés par **Semouma et al. (2024)**, qui ont observé une amélioration de l'activité antioxydante après microencapsulation, avec les microcapsules à base de levure plasmolysée affichant la plus forte activité antioxydante selon les cinq méthodes d'analyse utilisées (DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, phénanthroline et nanoparticules d'argent). De plus, **Gümüşay et al. (2025)** ont également signalé que les microcapsules de levure présentaient les activités DPPH les plus élevées, sans différence significative entre elles. Ainsi, nos résultats s'opposent à ces deux études, ce qui pourrait être attribué à des différences méthodologiques, à la nature des extraits utilisés ou encore aux conditions expérimentales de la plasmolyse.

L'activité antioxydante de la phénanthroline est plus élevée dans les cellules de levure intactes que dans les cellules de levure plasmolysées. Cette observation peut s'expliquer par le fait que la plasmolyse constitue une condition expérimentale susceptible de perturber les processus cellulaires normaux. Selon **Karaman (2021)**, la plasmolyse provoque la perte de constituants cellulaires comme les protéines et les polysaccharides, connus pour leurs propriétés antioxydantes. Ce processus vide la cellule de levure, ce qui améliore sa capacité de chargement, mais réduit son activité antioxydante.

Dans des conditions physiologiques normales, l'intégrité des cellules de levure intactes peut permettre une expression plus marquée de leur activité antioxydante (**Radovanovi et al., 2009 ; Brito et al., 2014**).

Les cellules intactes possèdent des organites cellulaires tels que les mitochondries et les peroxysomes, qui sont essentiels dans la production et la neutralisation des radicaux libres. Ces organites renferment des systèmes enzymatiques puissants, comme les superoxyde dismutases,

Résultats et discussion

les catalases et les peroxydases, qui contribuent activement à la détoxification des espèces réactives de l'oxygène (ERO). En revanche, lors de la plasmolyse, ces organites peuvent être endommagés ou perdus, ce qui altère leur capacité à neutraliser les radicaux libres (**Fu et al., 2021**).

Les cellules intactes conservent leur structure et leur intégrité membranaire, éléments essentiels pour se protéger contre le stress oxydatif. Les membranes cellulaires, constituées de lipides et de protéines, jouent un rôle clé dans cette défense, étant des cibles privilégiées des radicaux libres, en particulier les acides gras polyinsaturés. Préserver l'intégrité de la membrane permet ainsi d'éviter l'intrusion des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de réduire le stress oxydatif (**Gonçalves et al., 2017**).

De plus, les cellules intactes parviennent à maintenir un équilibre redox optimal grâce à une régulation précise de leur potentiel redox et à la production d'antioxydants endogènes tels que le glutathion et la vitamine C. Ces antioxydants jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des radicaux libres et la protection des composants cellulaires contre les dommages oxydatifs. En revanche, lors de la plasmolyse, le métabolisme cellulaire peut être perturbé, ce qui réduit la production d'antioxydants endogènes et diminue ainsi l'activité antioxydante (**Rice-Evans et al., 1995**).

En résumé, nos résultats révèlent une activité antioxydante notable avec la méthode ABTS, tandis que la méthode Phénanthroline met en évidence une activité plus variable, influencée par les conditions expérimentales. Dans ce test, aussi bien la levure intacte que l'extrait, sans différence significative entre eux, ont montré une activité antioxydante plus élevée comparée à celle de la levure plasmolysée. Cette différence suggère une activité antioxydante plus marquée avec l'ABTS par rapport à la méthode Phénanthroline. Cette disparité peut être attribuée à la différence de solubilité entre les deux radicaux. En effet, le radical ABTS⁺ est soluble aussi bien dans les milieux organiques que dans les milieux aqueux ce qui le rend adapté à une large gamme d'échantillons (**Cano et al., 2000**). En revanche, le test à la Phénanthroline est réalisé dans un milieu aqueux faiblement acide, généralement tamponné, ce qui peut influencer la solubilité et la réactivité des composés antioxydants testés.

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de ce mémoire était d'évaluer la capacité des cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae*), intactes et plasmolysées, à encapsuler les extraits phénoliques de *Pulicaria odora*. L'étude a porté sur la stabilité morphologique des cellules, la rétention des composés bioactifs ainsi que l'effet de l'encapsulation sur l'activité antioxydante des extraits.

L'observation au microscope a confirmé que les deux types de cellules pouvaient encapsuler les extraits, avec une rétention intracellulaire plus marquée dans les levures plasmolysées, en raison de leur perméabilité accrue. Les analyses ont montré une diminution globale des teneurs en polyphénols et flavonoïdes après encapsulation. Toutefois, les cellules plasmolysées ont présenté une meilleure rétention des flavonoïdes (98,98 %) par rapport aux cellules intactes (80,20 %), tandis qu'aucune différence significative n'a été observée pour les polyphénols totaux.

Concernant l'activité antioxydante, les résultats ont varié selon les méthodes utilisées. Le test ABTS a indiqué une amélioration après encapsulation, sans différence notable entre les deux types de levures. En revanche, la méthode à la phénanthroline a montré une activité plus élevée pour l'extrait non encapsulé et les levures intactes, ce qui suggère que la plasmolyse pourrait altérer certaines propriétés fonctionnelles.

En résumé, la plasmolyse semble améliorer l'encapsulation de certains composés comme les flavonoïdes, mais elle peut également réduire l'efficacité antioxydante globale. Il est donc important d'adapter le choix du type cellulaire et les conditions d'encapsulation en fonction des composés ciblés et de leur application.

Pour aller plus loin, il serait pertinent de :

- Étudier la stabilité des composés encapsulés dans différentes conditions de stockage (température, humidité, pH...) ;
- Tester d'autres extraits végétaux riches en composés bioactifs pour comparer les résultats ;
- Approfondir la compréhension des mécanismes d'absorption et de rétention à l'aide de techniques plus avancées (microscopie électronique, spectroscopie...).
- Évaluer l'efficacité biologique (antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire) dans des modèles cellulaires ou animaux.

Conclusion

- Optimiser les protocoles de plasmolyse pour améliorer l'encapsulation tout en préservant les propriétés des cellules.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdel, H. I., & Mansour, M. S. (2017). Polyphenols : Properties, occurrence, content in food and potential effects. *Environmental Science and Engineering*, 6, 232-61.
- Bellakhdar, J. (1977). *La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires* (p. 764). Paris, Casablanca : Ibis Press, Éditions Le Fennec. ISBN 2-910728-03-X.
- Benmahammed, A., Basil, A., & Bouleknafet, F. (2024). Antioxidant and antimicrobial activities of natural polyphenolic *Pulicaria odora* extract on clinical isolates. *African Journal of Biological Sciences*, 6(16), 93–111.
- Bénard, C. (2009). Etude de l' impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. *Université Montpellier II*.
- Bertolo, A. P., Biz, A. P., Kempka, A. P., Rigo, E., & Cavaleiro, D. (2019). Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) : Evaluation of cellular disruption processes, chemical composition, functional properties and digestibility. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3697–3706.
- Bińkowska, W., Szpicer, A., Stelmasiak, A., Wojtasik-Kalinowska, I., & Półtorak, A. (2024). Microencapsulation of polyphenols and their application in food technology. *Applied Sciences*, 14(24), 11954.
- Bishop, J. R. P., Nelson, G., & Lamb, J. (1998). Microencapsulation in yeast cells. *Journal of Microencapsulation*, 15(6), 761–773.
- Böhm, H., Boeing, H., Hempel, J., Raab, B., & Kroke, A. (1998). Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 37(2), 147-163.
- Boudeghdegh, F. Z., Bouguerne, Y., Bougdah, A. H., & Lamri, A. (2023). *Study of the impact of microencapsulation by Saccharomyces cerevisiae yeast cells on the phenolic compounds and antioxidant activity of Arbutus unedo L.* (Master's thesis, Université 20 Août 1955 - Skikda).
- Boumaraf, M., Mekkiou, R., Benyahia, S., Chalchat, J. C., Chalard, P., Benayache, F., & Benayache, S. (2016). Essential oil composition of *Pulicaria undulata* (L.) DC. (Asteraceae) growing in Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(5), 746–749.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols : chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.

Références bibliographiques

- Brito, A., Areche, C., Sepúlveda, B., Kennelly, E. J., & Simirgiotis, M. J. (2014). Anthocyanin characterization, total phenolic quantification and antioxidant features of some Chilean edible berry extracts. *Molecules*, *19*, 10936–10955.
- Cano, A., Acosta, M., & Arnao, M. B. (2000). A method to measure antioxidant activity in organic media : Application to lipophilic vitamins. *Redox Report*, *5*(6), 365–370.
- Carbonaro, M., Grant, G., & Pusztai, A. (2001). Evaluation of polyphenol bioavailability in rat small intestine. *European journal of nutrition*, *40*, 84-90.
- Cerit, İ. (2025). Evaluation of the effects of plasmolysis, solvent, and ultrasonication on encapsulation of lycopene in *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Food and Bioprocess Technology*, *18*, 2507–2518.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178–182.
- Chehrit-Hacid, F. (2016). *Etude de la variabilité biochimique, physiologique et évaluation des activités biologiques des polyphénols de deux espèces du genre Pistacia (P. lentiscus L. et P. atlantica Desf.)* (Doctoral dissertation).
- Ciccolini, L., Taillandier, P., Wilhem, A., Delmas, H., & Strehaiano, P. (1997). Low frequency thermo-ultrasonication of *Saccharomyces cerevisiae* suspensions : Effect of temperature and of ultrasonic power. *Chemical Engineering Journal*, *65*(2), 145–149.
- Coradello, G., & Tirelli, N. (2021). Yeast cells in microencapsulation : General features and controlling factors of the encapsulation process. *Molecules*, *26*(1), 3123.
- Costa, M., Sezgin-Bayindir, Z., Losada-Barreiro, S., Paiva-Martins, F., Saso, L., & Bravo Díaz, C. (2021). Polyphenols as antioxidants for extending food shelf-life and in the prevention of health diseases : Encapsulation and interfacial phenomena. *Biomedicines*, *9*(12), 1909.
- Czerniak, A., Kubiak, P., Białas, W., & Jankowski, T. (2015). Improvement of oxidative stability of menhaden fish oil by microencapsulation within biocapsules formed of yeast cells. *Journal of Food Engineering*, *167*, 2–11.
- Dadkhodazade, E., Khanniri, E., Khorshidian, N., Hosseini, S. M., Mortazavian, A. M., & Moghaddas Kia, E. (2021). Yeast cells for encapsulation of bioactive compounds in food products : A review. *Biotechnology Progress*, *37*(4), e3138.
- Dames, A., Dardar, K., Dechir, M., & Haddad, A. (2023). *Étude de l'impact de la microencapsulation par des cellules de levure sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante de fraise *Fragaria x ananassa* D.* [Master's thesis, Université 20 Août 1955 - Skikda].

Références bibliographiques

- Dangles, O. (2006). The physico-chemical properties of polyphenols. How do they relate to their roles in plants, foods and human health. *AgroFOOD Industry Hi-tech*, 17, 64-67.
- de Andrade, E. W. V., Hoskin, R. T., & da Silva Pedrini, M. R. (2022). Ultrasound-assisted encapsulation of curcumin and fisetin into *Saccharomyces cerevisiae* cells : A multistage batch process protocol. *Letters in Applied Microbiology*, 75(6), 1538–1548.
- Dimopoulos, G., Katsimichas, A., Tsimogiannis, D., Oreopoulou, V., & Taoukis, P. (2021). Cell permeabilization processes for improved encapsulation of oregano essential oil in yeast cells. *Journal of Food Engineering*, 294, 110408.
- Dinelli, G., Bonetti, A., Minelli, M., Marotti, I., Catizone, P., & Mazzanti, A. (2006). Content of flavonols in Italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food chemistry*, 99(1), 105-114.
- Ding, S., Jiang, H., & Fang, J. (2018). Regulation of immune function by polyphenols. *Journal of immunology research*, 2018.
- Dong, L. M., Hang, H. T. T., Tran, N. H. N., & Thuy, D. T. K. (2020). Improvement of anthocyanin encapsulation efficiency into yeast cell by plasmolysis, ethanol, and anthocyanin concentration using response surface methodology. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 48(3), 267–275.
- Doolam, B., Mishra, B., Surabhi, D., Mandal, S. K., Sada, S., Reddy, N. R., Panda, J., Rustagi, S., Mishra, A. K., & Mohanta, Y. K. (2025). A systematic review of potential bioactive compounds from *Saccharomyces cerevisiae* : Exploring their applications in health promotion and food development. *Environment, Development and Sustainability*, 27(2), 2983–2984.
- Edoga, M. O., Fadipe, A. L., & Edoga, R. N. (2006). Extraction of polyphenols from cashew nutshell. *Journal of Practices and Technologies*, 9, 107-112.
- Errenst, C., Petermann, M., & Kilzer, A. (2021). Encapsulation of limonene in yeast cells using the concentrated powder form technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 168, 105076.
- Ezoubeiri, A., Gadhi, C. A., Fdil, N., Benharref, A., Jana, M., & Vanhaelen, M. (2005). Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 287–292.
- Faghrou, H., Laouar, W., Gouiez, I., & Boutata, F. (2023). *Étude de l'impact de l'encapsulation dans des cellules de levure sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante d'une plante médicinale (Cynara scolymus L.)* [Master's thesis, Université 20 Août 1955 - Skikda].

Références bibliographiques

- Fernandes, S. S., Coelho, M. S., & de las Mercedes Salas-Mellado, M. (2019). Bioactive compounds as ingredients of functional foods : Polyphenols, carotenoids, peptides from animal and plant sources. In *Bioactive Compounds* (pp. 129–142). Woodhead Publishing.
- Fu, J., Song, L., Guan, J., Sun, C., Zhou, D., & Zhu, B. (2021). Encapsulation of Antarctic krill oil in yeast cell microcarriers : Evaluation of oxidative stability and in vitro release. *Food Chemistry*, 338, 128089.
- Ganeva, V., Galutzov, B., & Teissie, J. (2014). Evidence that pulsed electric field treatment enhances the cell wall porosity of yeast cells. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(3), 1540–1552.
- Gonçalves, B., Moeenfarid, M., Rocha, F., & Coimbra, M. A. (2017). Microencapsulation of a natural antioxidant from coffee chlorogenic acid (3-caffeoylquinic acid). *Food and Bioprocess Technology*, 10, 1521–1530.
- Grambusch, I. M., Schlabitz, C., Schmitz, C., Et Al. (2024). Spent brewer's yeast encapsulated by spray drying : A promising bioproduct for dairy cow feeding supplementation. *Biomass Conversion and Biorefinery*.
- Guerrero, S., Lopez-Malo, A., & Alzamora, S. M. (2001). Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae* : Influence of temperature, pH and amplitude. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(1), 31–39.
- Gümüşay, Ö. A., Cerit, I., & Demirkol, O. (2025). Utilization of yeast cells as alternative carriers in the microencapsulation of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) phenolic extract. *Foods*, 14(4), 625.
- Günal-Köroğlu, D., Bilgin, A. B., Karabulut, G., & Sarıcaoğlu, B. (2024). Encapsulation of hydrophobic compounds in yeast cells : Methods, characterization, and applications. *Exploration of Foods and Foodomics*, 2, 252–274.
- Guo, W. Y., Gu, X. L., Tong, Y. Q., Wang, X., Wu, J., & Chang, C. (2019). Protective effects of mannan/β-glucans from yeast cell wall on the deoxynivalenol-induced oxidative stress and autophagy in IPEC-J2 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 619–629.
- Halliwell, B. (2007). Dietary polyphenols : good, bad, or indifferent for your health ? *Cardiovascular research*, 73(2), 341-347.
- Hanbali, F. E., Akssira, M., Ezoubeiri, A., Gadhi, C. E., Mellouki, F., Benherraif, A. M., Blázquez, M. A., & Boira, H. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 399–401.

Références bibliographiques

- Hertweck, C. (2009). The biosynthetic logic of polyketide diversity. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(26), 4688-4716.
- Hireche, M., 2013. Dosage des polyphénols de la tomate « agora » et étude de leur pouvoir antioxydant. Mémoire de master. Université Hassiba Ben Bouali de Chleff.
- Jensen, L. T., Sanchez, R. J., Srinivasan, C., Valentine, J. S., & Culotta, V. C. (2004). Mutations in *Saccharomyces cerevisiae* iron-sulfur cluster assembly genes and oxidative stress relevant to Cu, Zn superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 279(29), 29938–29943.
- Jindal, K. K., & Sharma, R. C. (2004). *Recent trends in horticulture in the Himalayas : integrated development under the mission mode*. Indus Publishing.
- Joye, I. J., & McClements, D. J. (2014). Biopolymer-based nanoparticles and microparticles : Fabrication, characterization, and application. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 19(5), 417–427.
- Kalinina, I., Fatkullin, R., Naumenko, N., Ruskina, A., Popova, N., & Naumenko, E. (2022). Increasing the efficiency of taxifolin encapsulation in *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells based on ultrasonic microstructuring. *Fermentation*, 8(8), 378.
- Karaman, K. (2020). Characterization of *Saccharomyces cerevisiae*-based microcarriers for encapsulation of black cumin seed oil : Stability of thymoquinone and bioactive properties. *Food Chemistry*, 313, 126129.
- Karaman, K. (2021). Fabrication of gallic acid loaded yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) microcapsules : Effect of plasmolysis treatment and solvent type on bioactivity and release kinetics. *LWT - Food Science and Technology*, 148, 111640.
- Kasote, D. M., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2018). Encapsulation of polyphenols : An effective way to enhance their bioavailability for gut health. In *Advances in Plant Phenolics : From Chemistry to Human Health* (pp. 239–259). American Chemical Society.
- Kavosi, M., Mohammadi, A., Shojae-Aliabadi, S., Khaksar, R., & Hosseini, S. M. (2018). Characterization and oxidative stability of purslane seed oil microencapsulated in yeast cells biocapsules. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(6), 2490–2497.
- Kechar, K., & Hellal, B. (2016). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 13, 225–279.
- Kerrou, S., Maoui, I., & Ouar, N. E. H. (2023). *Study of the impact of microencapsulation by yeast cells on phenolic compounds and antioxidant activity of dandelion (Taraxacum officinale)* [Master's thesis, Université 20 Août 1955 - Skikda].
- Kilcher, G., Delneri, D., Duckham, C., & Tirelli, N. J. F. D. (2008). Probing (macro)molecular transport through cell walls. *Faraday Discussions*, 139, 199–212.

Références bibliographiques

- Kogani, G., et al. (2008). Yeast cell wall polysaccharides as antioxidants and antimutagens : Can they fight cancer ? Minireview. *Neoplasma*, 55(5), 387–394.
- Korber, D. R., Choi, A., Wolfaardt, G. M., & Caldwell, D. E. (1996). Bacterial plasmolysis as a physical indicator of viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11), 3939–3947.
- Krasnow, M. N., & Murphy, T. M. (2004). Polyphenol glucosylating activity in cell suspensions of grape (*Vitis vinifera*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3467–3472.
- Kurek, M. A., Majek, M., Onopiuk, A., Szpicer, A., Napiórkowska, A., & Samborska, K. (2023). Encapsulation of anthocyanins from chokeberry (*Aronia melanocarpa*) with plasmolyzed yeast cells of different species. *Food and Bioproducts Processing*, 137, 84–92.
- Labuschagne, P. (2018). Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals : A review. *Food Research International*, 107, 227–247.
- Ladoh Yemeda, C. F., Dibon, S. D., Nyegue, M. A., Djembissi Talla, R. P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo, E., Yinyang, J., & Wansi, J. D. (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*, 84, 7636–7643.
- Lattanzio, V., Lattanzio, V. M., & Cardinali, A. (2006). Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry : Advances in research*, 661(2), 23–67.
- Li, H., Zhang, X., Zhao, C., Zhang, H., Chi, Y., Wang, L., Zhang, H., Bai, S., & Zhang, X. (2022). Entrapment of curcumin in soy protein isolate using the pH-driven method : Nanoencapsulation and formation mechanism. *LWT - Food Science and Technology*, 153, 112480.
- Lieu, D. M., Vo, L. T. K., Le, H. G., Nguyen, T. T. B., & Dang, T. T. K. (2024). Yeast cell as a potential microcapsule of bioactive compounds : An overview. *Nutrire*, 49(12), 1–14.
- Lieu, M. D., Hoang, T. T. H., Nguyen, H. N. T., & Dang, T. K. T. (2020). Evaluation of anthocyanin encapsulation efficiency into yeast cell by plasmolysis, ethanol, and ultrasound treatments using alone or in combination. *Food Research International*, 4(2), 557–562.
- Liu, S., Tao, M., & Huang, K. (2021). Encapsulation of mānuka essential oil in yeast microcarriers for enhanced thermal stability and antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 2195–2206.
- Liu, W., & Guo, R. (2005). Interaction between morin and sodium dodecyl sulfate (SDS) micelles. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(8), 2890–2896.

Références bibliographiques

- Lopez, N., Puertolas, E., Condon, S., Alvarez, I., & Raso, J. (2008). Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 477–482.
- Lopez, N., Puertolas, E., Condon, S., Raso, J., & Alvarez, I. (2009). Enhancement of the solid–liquid extraction of sucrose from sugar beet (*Beta vulgaris*) by pulsed electric fields. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1674–1680.
- Lu, Y., Wang, K., & Hu, L. (2025). Advancements in delivery systems for dietary polyphenols in enhancing radioprotection effects : Challenges and opportunities. *NPJ Science of Food*, 9, Article 51.
- Makris, D. P., & Boskou, D. (2014). Plant-derived antioxidants as food additives. *Plants as a source of natural antioxidants*, 398, 169-190.
- Morris, G., Winters, L., Coulson, G., & Clarke, K. (1986). Effect of osmotic stress on the ultrastructure and viability of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology*, 132(7), 2023–2034.
- Naczk, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables : Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1523-1542.
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425.
- Nguyen, T.-T., Phan-Thi, H., Pham-Hoang, B.-N., Ho, P.-T., Tran, T. T. T., & Wache, Y. (2018). Encapsulation of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins as natural colours in yeast. *Food Research International*, 107, 275–280.
- Normand, V., Dardelle, G., Bouquerand, P.-E., Nicolas, L., & Johnston, D. J. (2005). Flavor encapsulation in yeasts : Limonene used as a model system for characterization of the release mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(19), 7532–7540.
- Oliveira, A. S., Ferreira, C., Pereira, J. O., Pintado, M. E., & Carvalho, A. P. (2022). Valorisation of protein-rich extracts from spent brewer’s yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): An overview. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1–23.
- Paramera, E. I., Karathanos, V. T., & Konteles, S. J. (2014). Yeast cells and yeast-based materials for microencapsulation. In G. O. Phillips & P. A. Williams (Eds.), *Microencapsulation in the Food Industry* (pp. 267–281). Academic Press.
- Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. (2011). Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry*, 125(3), 892–902.

Références bibliographiques

- Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. (2011). Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, β -cyclodextrin and modified starch. *Food Chemistry*, 125(3), 913–922.
- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A.-S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6(1), 1–31.
- Pasukamonset, P., Kwon, O., & Adisakwattana, S. (2016). Alginate-based encapsulation of polyphenols from *Clitoria ternatea* petal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 61, 772–779.
- Pham-Hoang, B. N., Romero-Guido, C., Phan-Thi, H., & Wache, Y. (2018). Strategies to improve carotene entry into cells of *Yarrowia lipolytica* in a goal of encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 224, 88–94.
- Puértolas, E., Cregenzán, O., Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2013). Pulsed-electric-field-assisted extraction of anthocyanins from purple-fleshed potato. *Food Chemistry*, 136(3–4), 1330–1336.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962–1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Vols. 1–2). CNRS, Paris.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat - Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols : chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.
- Radovanović, A., Radovanović, B., & Jovancićević, B. (2009). Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. *Food Chemistry*, 117, 326–331.
- Rahmani, Z. (2020). *Contribution à l'étude phytochimique, électrochimique et biologique des extraits de Cupressus sempervirens (L)* [Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah-Ouargla].
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4), 375–383.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.

Références bibliographiques

- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., & Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(7), 1386–1394.
- Round, A., & Nelson, G. (2006). Encapsulation using microbial cells. *UK Patent Application*, 2(424), 408.
- S., Shaw, Z. L., Vongsvivut, J., Tobin, M. J., & Blanch, E. W. (2021). Analysis of pathogenic bacterial and yeast biofilms using the combination of synchrotron ATR-FTIR microspectroscopy and chemometric approaches. *Molecules*, 26(13), 3890.
- Saidani, K., Touati, N., Merzouk, H., Boussaa, H., Bedjou, F., & Oomah, B. D. (2023). Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of *Pulicaria odora* extract. *Current Bioactive Compounds*, 19(1), e040422203044.
- Sala, A., Spalding, K. E., Ashton, K. M., Board, R., Butler, H. J., Dawson, T. P., ... & Baker, M. J. (2020). Rapid analysis of disease state in liquid human serum combining infrared spectroscopy and “digital drying”. *Journal of Biophotonics*, 13(9), e202000118.
- Sambrani, R., Abdolalizadeh, J., Kohan, L., & Jafari, B. (2019). *Saccharomyces cerevisiae* inhibits growth and metastasis and stimulates apoptosis in HT-29 colorectal cancer cell line. *Comparative Clinical Pathology*, 28(4), 985–995.
- Saulou, C., Jamme, F., Maranges, C., Fourquaux, I., Despax, B., Raynaud, P., Dumas, P., & Mercier-Bonin, M. (2010). Synchrotron FTIR microspectroscopy of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* after exposure to plasma-deposited nanosilver-containing coating. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(4), 1441–1448.
- Semouma, D., Laib, I., Laib, D. E., Chenchouni, H., Rahmani, Y., Fekrache, F., Hadeif, A., Bensouici, C., & Barkat, M. (2024). Microencapsulation of *Myrtus communis* extracts in *Saccharomyces cerevisiae* cells : Effects on phenolic content and antioxidant capacity, physical characterization and molecular docking analysis. *Food and Bioprocess Technology*.
- Shashirekha, M. N., Mallikarjuna, S. E., & Rajarathnam, S. (2015). Status of bioactive compounds in foods, with focus on fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(10), 1324–1339.
- Shi, G., Rao, L., Yu, H., Xiang, H., Yang, H., & Ji, R. (2007). Yeast-cell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1060–1067.
- Shi, G., Rao, L., Yu, H., Xiang, H., Yang, H., & Ji, R. (2008). Stabilization and encapsulation of photosensitive resveratrol within yeast cell. *International Journal of Pharmaceutics*, 349(1–2), 83–93.

Références bibliographiques

- Stirke, A., et al. (2019). The link between yeast cell wall porosity and plasma membrane permeability after PEF treatment. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10.
- Sultana, A., Miyamoto, A., Hy, Q. L., Tanaka, Y., Fushimi, Y., & Yoshii, H. (2017). Microencapsulation of flavors by spray drying using *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Engineering*, 199, 36–41.
- Szeghalmi, A., Kaminskyj, S. G. W., & Gough, K. M. (2007). Synchrotron FTIR microspectroscopy of fungal hyphae. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(5), 1779–1789.
- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899–905.
- Tan, T. T. W., District, T. P., & City, V. N. (2020). Evaluation of anthocyanin encapsulation efficiency into yeast cell by plasmolysis, ethanol, and ultrasound treatments using alone or in combination. *Food Research*, 4(2), 557–562.
- Tanner, G. J., Francki, K. T., Abrahams, S., Watson, J. M., Larkin, P. J., & Ashton, A. R. (2003). Proanthocyanidin biosynthesis in plants : purification of legume leucoanthocyanidin reductase and molecular cloning of its cDNA. *Journal of Biological Chemistry*, 278(34), 31647-31656.
- Toepfl, S., Heinz, V., & Knorr, D. (2007). High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical Engineering and Processing : Process Intensification*, 46(6), 537–546.
- Touati, N., Casas, L., Mantell, C., Martínez De La Ossa, E., & Bedjou, F. (2014). Green extraction methods of antioxidants from *Pulicaria odora*. In *GPE – 4th International Congress on Green Process Engineering*, 7–10 April 2014, Seville, Spain.
- Van der Rest, M., Kamminga, A. H., Nakano, A., Anraku, Y., Poolman, B., & Konings, W. N. (1995). The plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae* : Structure, function, and biogenesis. *Microbiological Reviews*, 59(2), 304–322.
- Ventrella, M. C., & Marinho, C. R. (2008). Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenaceae* (Boraginaceae) leaves. *Revista Brasileira de Botânica*, 31(3), 457–467.
- Vieira, E. F., Carvalho, J., Pinto, E., Cunha, S., Almeida, A. A., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2016). Nutritive value, antioxidant activity and phenolic compounds profile of brewer's spent yeast extract. *Journal of Food Composition and Analysis*, 52, 44–51.

Références bibliographiques

- Wang, L. L., & Xiong, Y. L. (2005). Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 9186–9192.
- Waterhouse, A. (1999). Folin–Ciocalteu micro method for total phenol in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49–55.
- Watson, E. (2012). Who has self-affirmed GRAS. *FOOD navigator-usa. com*.
- Williamson, G., & Manach, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 interventions studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 243S-255S.
- Wocławek-Potocka, I., Mannelli, C., Boruszewska, D., Kowalczyk-Zieba, I., Waśniewski, T., & Skarżyński, D. J. (2013). Diverse effects of phytoestrogènes on the reproductive performance : cow as a model. *International journal of endocrinology*, 2013, 1-15.
- Wu, T., Yu, X., Hu, A., Zhang, L., Jin, Y., & Abid, M. (2015). Ultrasonic disruption of yeast cells : Underlying mechanism and effects of processing parameters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 28, 59–65.
- Xiang, N. G. Z., & Na See, A. (2018). Effect of in vitro digestion on the total polyphenol and flavonoid, antioxidant activity and carbohydrate hydrolyzing enzymes inhibitory potential of selected functional plant-based foods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(e13612), 1–13.
- Young, S., & Nitin, N. (2019). Thermal and oxidative stability of curcumin encapsulated in yeast microcarriers. *Food Chemistry*, 275, 1–7.
- Young, S., Dea, S., & Nitin, N. (2017). Vacuum facilitated infusion of bioactives into yeast microcarriers : Evaluation of a novel encapsulation approach. *Food Research International*, 100, 100–112.
- Zhang, Z., Wang, J., Miao, W., Lin, Q., Ji, H., Li, X., McClements, D. J., Jin, Z., & Qiu, C. (2025). Recent advances in bio-based co-delivery systems for food bioactive compounds : A review. *Food Bioscience*, 63, 105758.