

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

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: Biochimie appliquée  
Intitulé :

Etude de l'impact de la micro encapsulation par des cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae* sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante de l'arbousier *Arbutus unedo* L.

Présenté Par :

Boudeghdegh Fatima Zahra

Bouguerne Yousra

Bougdah Aya hibat ellah

Lamri Aya

Membre de Jury:

Zaidi. N	Professeur	Présidente	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Laib.I	M.C.A	Directeur de mémoire	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Boucetta .S	M.C.A	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience et le courage d'accomplir ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce modeste mémoire.*

*Nous tenons à remercier notre encadrante **Laïb Imen**, pour son encadrement, son aide précieuse durant toute la période de travail et sa gentillesse.*

*Nous tenons particulièrement à remercier les membres de jury : **Zaidi** .N d'avoir accepté de juger ce travail et de nous faire l'honneur de présider ce jury de mémoire. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect.*

***Boucetta** .S d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer au jury de ce mémoire. Veuillez accepter notre profonde gratitude.*

*Nous remercions toutes les ingénieurs des laboratoires de l'université de Skikda où on a effectué ce travail pour leur serviabilité et leur encouragement.*

*Nous remercions s'étendent également à Mr **Aouzal Badis** et tous les enseignants de notre département de biologie.*

*Enfin, un grand merci se lance vers nos très chers parents qui ont toujours été là pour nous.*

# *Dédicaces*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde.*

♥ *À mes très chers parents : Mon père **Abd El Hadi** et ma mère **Rachida**.*

*Grâce à leurs tendres encouragements et leur soutien durant toute ma vie d'étudiante et sans lesquels je ne serai jamais devenue ce que je suis.*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.*

*Je prie le bon DIEU de les protéger, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.*

♥ *À ma chère sœur : **Ryane***

*Je n'oublierai jamais ton encouragement et ton soutien pendant cette période.*

♥ *À mon cher frère : **Mohamed Yacine**.*

♥ *À toutes mes chères Amies et surtout : **Aya hibat ellah** et **Sarah**  
Merci d'être toujours avec moi.*

♥ *À toute ma famille.*

♥ *À le trio : **Aya hibat ellah**, **Zahra** et **Yousra**  
Pour les bons moments passés ensemble durant ce travail.*

♥ *À toute personne ayant contribué à ce travail de près ou de loin.*

♥ *À ma promotion et à tous ceux et celles qui me sont chers.  
Enfin, je dédie ce mémoire à tous ceux qui m'aiment et aiment me voir réussir dans ma vie (Famille et amis).*

*Aya*

# *Dédicaces*

*Grâce à l'omnipotence d'ALLAH qui a éclairé ma voie, j'ai pu concrétiser ce travail que je souhaite dédier avec gratitude :*

- ♥ *A mon idole, mon père BOUBAKER SEDDIK, un véritable pilier qui m'a soutenu inconditionnellement à chaque tournant crucial de ma vie.*
- ♥ *A ma meilleure mère du monde AZIZA, une modèle exceptionnelle qui a été mon soutien indéfectible et une source d'inspiration inépuisable.*
- ♥ *Mes chers parents, que dieu vous accorde une santé florissante et une longévité bienheureuse.*
- ♥ *A ma sœur bien-aimée ROQUIA, une personne unique, aimante et bienveillante qui éclaire ma vie de sa présence rayonnante et qui me comble d'un amour indescriptible.*
- ♥ *A mes merveilleux frères MOHAMED ESSEDIK, ABD EL MOUMEN, TAWFIQ, DJABER, ISHAK, vous êtes ceux qui illuminent mes visages joyeux, la force qui me motive, mes protecteurs infatigables et mes amis les plus loyaux.*
- ♥ *A toutes les mariées de mes frères MOUNA, IKRAM, DINA.*
- ♥ *Aux adorables anges de ma famille YAAKOUB, KARIM, ARYAM, BOUBAKER SEDDIK MONCIF, TINHINAN.*
- ♥ *À le trio :Aya, Yousra et aya hibat ellah  
Pour les bons moments passés ensemble durant ce travail.*

*Merci, je vous aime plus que tout le monde.*

*Fatima Zahra*

# *Dédicaces*

♥ *Avant tout Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Allah qui a éclairé mon chemin vers la connaissance et m'a accordé la patience et le courage nécessaires pour atteindre ce stade.*

♥ *C'est avec une immense reconnaissance et tout mon amour que je dédie ce travail à:*

♥ *A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences, qui a consacré tous ses efforts à mon bonheur Ma vie, ma précieuse Mère **Habíba**.*

♥ *A celui qui s'est change la nuit en jour pour m'assurer les bonnes Conditions, mon précieuse offre de dieu, qui doit ma vie et tous mes Respects Mon héros, mon très cher Père **Hocíne** que Dieu ait son âme.*

♥ *A mon très cher frère ma source de bonheur et mon soutien inébranlable **zakaría***

♥ *À le trio :, **Zahra ,aya, Aya híbat ellah**  
Pour les bons moments passés ensemble durant ce travail.*

♥ *À tous ceux qui m'aiment et qui sont les personnes les plus chères à mon cœur.*

*Yousra*

# *Dédicaces*

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A mes chers parents*

- ♥ *A mon père **Rachid**, l'épaule solide et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.*
- ♥ *A ma mère **Halima**, ma raison d'être, ma raison de vivre, la lanterne qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour.  
Je les remercie pour leur sacrifice et espère leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait. Que Dieu les bénisse avec santé et longévité.*
- ♥ *A mon frère **Nour el islam** et mes chères sœurs **Rania, Meriem et Ichrak** et à leurs époux qui a cru en moi et qui me donne l'envie d'aller en avant et il m'a chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.*
- ♥ *Aux petits anges de ma famille : **Alaa, Idiris, Rawad, Khalil et Jouri**.*
- ♥ *A mes tantes, oncles, cousins, cousines et alliés de la famille qui m'ont toujours soutenu durant toute ma vie.*
- ♥ *À mon amie inestimable **lamri Aya** : Tu as toujours été là pour moi, peu importe les circonstances, et ta présence dans ma vie est un cadeau précieux. Tu es ma confidente, ma complice et ma source de soutien inconditionnel.*

♥ *Le trio : **Aya, zahra et Yousra***

*Pour les bons moments passés ensemble durant ce travail.*

- ♥ *A tous mes amis que j'ai connu jusqu'à maintenant. Merci pour leurs Encouragements et les bons moments.*

*Aya Hibat Allah*

## Sommaire

Résumé.	
Liste des abréviations.	
Liste des figures.	
Liste des tableaux.	
Introduction .....	1

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre 1 : Arbousier '*Arbutus unedo* L'

1. Description botanique de la plante .....	3
1.1. Origine .....	3
1.2. Définition.....	3
1.3. Description et caractéristique .....	3
2. Classification .....	5
3. Distribution géographique.....	5
4. Composition chimique .....	6
4.1. Les composés phénoliques .....	6
4.2. Autres composés.....	7
5. Utilisation .....	8
5.1. Utilisation thérapeutique.....	8
5.2. Utilisation culinaire .....	8
6. Toxicité.....	8

#### Chapitre 2 : Les polyphénols

1. Définition .....	9
2. Classification.....	9
3. Voies de biosynthèse .....	10
a. Voie de l'acide shikimique.....	10
b. voie des phénylpropanoïdes.....	10
c. Voie de l'acétate / malonate.....	10
4. Localisation des polyphénols dans la plante .....	11
5. Activités biologiques des polyphénols .....	12
5.1 Activité antioxydante des polyphénols.....	12
5.1.1 Mécanismes antioxydants des polyphénols .....	13
5.2. Autres activités .....	15
6. Facteurs de variabilité des polyphénols .....	16

## Chapitre 3 : Encapsulation

1. Généralité .....	17
2. Objectif d'encapsulation .....	17
3. Techniques d'encapsulation pour les composés phénoliques .....	18
3.1. Séchage par pulvérisation .....	18
3.2. Coacervation .....	19
3.3. Émulsion .....	19
3.4. Lyophilisation .....	20
3.5. Co-cristallisation .....	20
3.6. Liposomes .....	21
3.7. Inclusion .....	21
3.8. Nanoparticules .....	21
3.9. Encapsulation à l'intérieur de cellules de levure .....	22

### Partie expérimentale

#### Matériel et méthodes

1. Matériel .....	24
1.1. Matériel végétal .....	24
1.2. Extraction des polyphénols .....	25
2. Méthodes .....	26
2.1. Préparation de la souche de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	26
2.2. Plasmolyse des souches de levures .....	26
2.3. Micro encapsulation des composés phénoliques .....	26
2.4. Efficacité d'encapsulation .....	26
2.5. Dosage des composés phénoliques .....	27
2.5.1. Dosage des polyphénols totaux .....	27
2.5.2. Dosage des flavonoïdes .....	27
2.5.3. Dosage des tanins .....	28
2.6. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) en Réflexion Totale Atténuée (ATR) des Extraits de l'arbousier Avant et Après encapsulation .....	28
2.7. Evaluation de l'activité antioxydante .....	28
2.7.1. Méthode DPPH .....	29
2.7.2. Méthode ABTS .....	30

## Résultats et discussion

1. Teneurs en composés phénoliques de fruits de l'arbousier.....	32
1.1. Courbes d'étalonnage .....	32
1.2. Teneurs en polyphénols totaux .....	32
1.3. Teneur en flavonoïdes .....	34
1.4. Teneur en tanins.....	36
2. Analyse FTIR .....	39
3. Effet de l'enapsulation sur l'activité antioxydante de l'arbousier .....	41
Conclusion .....	46
Références bibliographiques .....	46

## Résumé

Cette étude vise à examiner les effets de la micro encapsulation en utilisant des cellules de levure (intactes et plasmolysées) sur les concentrations de polyphénols totaux, de flavonoïdes, de tanins et l'activité antioxydante de l'arbousier (*Arbutus unedo* L.). Les concentrations de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins ont été mesurées à l'aide de méthodes spectrophotométriques. Une analyse FTIR a été réalisée pour étudier l'interaction moléculaire entre la levure et les composés phénoliques. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les méthodes DPPH et ABTS. Les résultats indiquent une diminution des concentrations de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits encapsulés par rapport aux extraits non encapsulés. L'efficacité de l'encapsulation était plus élevée pour les polyphénols totaux et les tanins dans les extraits encapsulés avec des levures plasmolysées par rapport aux levures intactes. Cependant, pour les flavonoïdes, l'efficacité d'encapsulation était supérieure dans les extraits encapsulés avec des levures intactes. L'analyse FTIR confirme une interaction entre la levure et les composés phénoliques. En ce qui concerne l'activité antioxydante, l'extrait encapsulé avec des levures intactes a montré une augmentation de l'activité antioxydante mesurée par la méthode DPPH, avec un faible taux d'IC50. En revanche, l'extrait encapsulé avec des levures intactes et plasmolysées a montré une augmentation de l'activité antioxydante mesurée par la méthode ABTS.

**Mots clés :** Arbousier (*Arbutus unedo* L.), micro encapsulation, levure, composés phénoliques, activité antioxydante.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة تأثير الكبسلة الدقيقة باستخدام خلايا الخميرة (سليمة و متحللة بالبلازما) على تركيزات البوليفينولات الكلية والفلافونويدات والتانين والنشاط المضاد للأكسدة في شجرة الفراولة (*Arbutus unedo L.*). تم قياس تركيزات البوليفينولات الكلية والفلافونويدات والتانين باستخدام طرق القياس الطيفي. تم إجراء تحليل FTIR لدراسة التفاعل الجزيئي بين الخميرة والمركبات الفينولية. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طرق DPPH و ABTS. تشير النتائج إلى انخفاض في تركيزات البوليفينولات الكلية والفلافونويدات والتانين في المستخلصات المغلفة مقارنة بالمستخلصات غير المغلفة. كانت كفاءة التغليف أعلى بالنسبة للبوليفينولات الكلية والتانين في المستخلصات المغلفة بالخمائر المتحللة بالبلازما مقارنة بالخميرة السليمة. ومع ذلك، بالنسبة للفلافونويدات، كانت كفاءة التغليف أعلى في المستخلصات المغلفة بالخميرة السليمة. يؤكد تحليل FTIR التفاعل بين الخميرة والمركبات الفينولية. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة، أظهرت المستخلصات المغلفة بالخميرة السليمة زيادة في النشاط المضاد للأكسدة المقاسة بواسطة طريقة DPPH ، مع قيمة IC50 منخفضة. ومن ناحية أخرى، أظهرت المستخلصات المغلفة بالخميرة السليمة والمتحللة بالبلازما زيادة في النشاط المضاد للأكسدة المقاسة بواسطة طريقة ABTS .

**الكلمات الرئيسية:** شجرة الفراولة (أربوتوس يونيدو لاتينية)، التغليف، الخميرة، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة.

## Abstract

This study aims to examine the effects of microencapsulation using yeast cells (intact and plasmolysed) on the concentrations of total polyphenols, flavonoids, tannins, and antioxidant activity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.). The concentrations of total polyphenols, flavonoids, and tannins were measured using spectrophotometric methods. FTIR analysis was conducted to study the molecular interaction between yeast and phenolic compounds. Antioxidant activity was evaluated using DPPH and ABTS methods. The results indicate a decrease in the concentrations of total polyphenols, flavonoids, and tannins in the encapsulated extracts compared to non-encapsulated extracts. The encapsulation efficiency was higher for total polyphenols and tannins in the extracts encapsulated with plasmolysed yeast compared to intact yeast. However, for flavonoids, the encapsulation efficiency was higher in the extracts encapsulated with intact yeast. FTIR analysis confirms an interaction between yeast and phenolic compounds. Regarding antioxidant activity, the extract encapsulated with intact yeast showed an increase in antioxidant activity measured by the DPPH method, with a low IC<sub>50</sub> value. On the other hand, the extract encapsulated with both intact and plasmolysed yeast showed an increase in antioxidant activity measured by the ABTS method.

**Keywords:** Strawberry tree (*Arbutus unedo* L.), microencapsulation, yeast, phenolic compounds, antioxidant activity.

ABTS: 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acide).

Acétyle coA : acetyl coenzyme A.

ATR : Réflexion totale atténuée.

DE10: dextrose équivalent égale à 10.

DO: densité optique.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EE: Efficacité d'encapsulation.

EGCG : épigallocatechine gallate (catéchine).

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

FTIR : analyse par Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: acide sulfurique.

Hcl : acide chlorhydrique.

IC50: demi-inhibition de la concentration.

IRE : Élément de réflexion interne.

K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> : persulfate de potassium.

Lc : Cristal liquide.

LDL: Low Density Lipoproteins.

Mcf-7: l'acronyme de Michigan Cancer Foundation – 7.

Mg EAG/g ES: Milligrammes équivalents acide gallique par gramme d'extrait sec.

Mg EAT/g ES: Milligrammes équivalents acide tannique par gramme d'extrait sec.

Mg EQ/g ES: Milligrammes équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec.

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: carbonate de sodium.

NaCl : chlorure de sodium .

O/W2: émulsion double, une émulsion huile dans l'eau est encore incorporée dans une autre phase aqueuse.

p/p : pourcentage en poids.

SOD : Super oxyde dusmutase.

W1/O/W2 : Double émulsion dans laquelle une phase aqueuse, W1, est dispersée dans l'huile formant le émulsion eau-dans-huile qui est ensuite dispersée dans une phase aqueuse secondaire, W2.

Figure 1: Les fruits de l'arbousier <i>Arbutus unedo</i> L.....	3
Figure 2: <i>Arbutus unedo</i> : arbre(A) ;fruits mûrs (B) et non mûrs (C) ;fleurs et feuilles (D) .....	4
Figure 3 : Distribution d' <i>Arbutus unedo</i> en Europe et en Afrique du Nord.....	5
Figure 4: Structure de base d'un phénol .....	9
Figure 5: Classification générale des polyphénols .....	9
Figure 6: Localisation des composés phénoliques solubles et insolubles dans les cellules.....	11
Figure 7: effets biologiques des polyphénols .....	12
Figure 8: Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage .....	13
Figure 9: Sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes .....	14
Figure 10: les sources des ERO.....	15
Figure 11: Publications avec les mots clés « food, encapsulation and nano » de 2005 à 2019 .....	18
Figure 12: Illustration des caractéristiques de capsules polyphénoliques encapsulées .....	23
Figure 13: Carte géographique montre la région de récolte.....	24
Figure 14: Fruits de l'arbousier <i>Arbutus unedo</i> L .....	25
Figure 15: Protocole d'extraction des polyphénols.....	25
Figure 16: Mécanisme d'action du DPPH .....	29
Figure 17: Courbe d'étalonnage d'acide gallique. ....	32
Figure 18: Efficacité d'encapsulation des polyphénols totaux.....	33
Figure 19: Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	34
Figure 20: Efficacité d'encapsulation des flavonoïdes. ....	35
Figure 21: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique. ....	36
Figure 22: Efficacité d'encapsulation des tannins.....	37
Figure 23: Analyse FTIR.....	39

### Liste des tableaux

Tableau 1:Les différents composés phénoliques présentent dans l'arbousier .....	6
Tableau 2:Les autres composés présentent dans l'arbousier .....	7
Tableau 3:Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g ES ) .....	32
Tableau 4:Teneurs en flavonoïdes (mgEQ/g ES).....	34
Tableau 5:Teneurs en tanins (mg EAT/g ES) .....	36
Tableau 6:Valeurs d'IC50 (mg/ml).....	41

# **Introduction**

## Introduction

---

Les plantes médicinales sont depuis longtemps utilisées dans diverses traditions thérapeutiques à travers le monde (Jamshidi *et al.*, 2018). Leurs propriétés bénéfiques pour la santé humaine sont souvent attribuées à la présence de composés phytochimiques, tels que les polyphénols. Ces molécules bioactives sont reconnues pour leur potentiel antioxydant (Yan *et al.*, 2020) qui contribue à la prévention des maladies chroniques (Chaker, 2021), telles que les maladies cardiovasculaires (Manallah, 2012), le cancer et le vieillissement prématuré (Zhou *et al.*, 2016).

L'un des exemples de plante riche en antioxydants est l'arbousier (*Arbutus unedo* L), un fruit sauvage largement répandu dans les régions méditerranéennes. L'arbousier a été choisi comme modèle de plante médicinale en raison de sa richesse en polyphénols, qui lui confère des propriétés potentiellement bénéfiques pour la santé. Les polyphénols sont une classe de composés chimiques présents dans de nombreuses plantes. Leur structure chimique variée leur permet d'agir comme des antioxydants, en neutralisant les radicaux libres responsables du stress oxydatif dans l'organisme (Sinha, 2019). Le stress oxydatif est associé à de nombreux problèmes de santé, notamment les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et le vieillissement prématuré.

Cependant, malgré les nombreux avantages des polyphénols, leur utilisation pratique peut être limitée en raison de leur instabilité et de leur faible biodisponibilité (Beikzadeh, 2019). C'est là que l'encapsulation des polyphénols entre en jeu. L'encapsulation est un processus qui consiste à enfermer les composés actifs dans des particules protectrices afin de les isoler de l'environnement extérieur et de prolonger leur stabilité (Sultana, 2017). Différentes méthodes ont été utilisées pour l'encapsulation, parmi lesquelles les plus fréquemment employées sont : le séchage par pulvérisation, qui permet de transformer un liquide en poudre en utilisant un processus de séchage à chaud (Maqsoudlou, 2020) ; l'émulsion, qui permet de disperser des composés de deux liquides non miscibles (Gharehbeglou *et al.*, 2019) ; et la lyophilisation, qui consiste à congeler le produit, puis à le placer sous vide tout en le chauffant doucement (Wilkowska *et al.*, 2016). En outre, d'autres techniques d'encapsulation incluent la coacervation, les liposomes, l'inclusion, la co-cristallisation, les nanoparticules, ainsi que l'encapsulation à l'intérieur des cellules de levure.

L'encapsulation des polyphénols dans les levures présente plusieurs avantages. Tout d'abord, elle permet de protéger les polyphénols de la dégradation causée par les conditions environnementales défavorables, telles que la lumière, l'oxygène et la chaleur (Pereyra, 2018). Les levures offrent une barrière physique qui préserve l'intégrité des polyphénols, assurant ainsi leur stabilité et leur activité biologique (Maqsoudlou *et al.*, 2020). Cette encapsulation constitue une

## Introduction

---

méthode prometteuse pour améliorer la disponibilité et l'efficacité des polyphénols dans le cadre de leur utilisation en tant qu'agents thérapeutiques ou compléments alimentaires. De plus, les levures peuvent être utilisées comme vecteurs pour délivrer les polyphénols de manière ciblée dans l'organisme, ce qui augmente leur biodisponibilité et leur capacité à atteindre les tissus ou organes spécifiques nécessitant un traitement (Pereyra, 2018).

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de l'encapsulation dans des cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae* (intactes et plasmolysées) sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de l'arbousier *Arbutus unedo* L.

Le mémoire présenté se compose de deux parties distinctes.

Dans la première partie, nous avons abordé plusieurs aspects généraux concernant la plante médicinale *Arbutus unedo* L.

De plus, nous avons réalisé une étude bibliographique approfondie sur les polyphénols et exploré l'effet de leur encapsulation dans des cellules de levure.

La seconde partie est dédiée à la description de la partie expérimentale, incluant le matériel utilisé ainsi que les méthodes mises en œuvre. Nous avons également présenté les techniques de dosage des composés phénoliques et d'évaluation de l'activité antioxydante. Les résultats obtenus ont été analysés et discutés en détail.

# **Synthèse bibliographique**

**Chapitre 1: Arbousier ‘*Arbutus unedo* L’**

## 1. Description botanique de la plante

### 1.1. Origine

*Arbutus* est le nom latin désignant l'arbousier, un arbre dont le nom dérive potentiellement du terme latin "Arbor", signifiant arbre, ou du terme celtique "arbois", qui fait référence à un fruit rugueux, en lien avec la texture de l'arboise. Des traces de consommation d'arboises par des populations préhistoriques ont été découvertes dans l'Hérault, près du village d'Argelliers, sur un site néolithique daté d'environ 2800 avant notre ère. Lors des fouilles menées sur les vestiges d'une ancienne maison en pierres sèches ayant brûlé à cette époque lointaine, des restes d'arboises ont été identifiés parmi les découvertes. De nos jours, ces petits fruits demeurent un complément alimentaire abondant et facile à récolter (Alexandre *et al.* 2018).

### 1.2. Définition

L'arbousier ou l'arbre aux fraises, également appelé *Arbutus unedo* L (figure 1), est un arbuste sauvage qui pousse dans les régions méditerranéennes. En Algérie, il est connu sous le nom de "Lendj" en arabe et "Assisnou" en berbère. Il fait partie de la famille des Ericaceae, qui comprend environ 80 genres et plus de 2000 espèces. Il est largement répandu en raison de sa tolérance à la sécheresse et de sa capacité à se régénérer et à recoloniser les forêts incendiées (Doukani et Tabak, 2015).



**Figure 1:** Les fruits de l'arbousier *Arbutus unedo* L (photo originale, 2023).

### 1.3. Description et caractéristique

L'arbousier est une plante ornementale précieuse, touffue, mesurant de 1,5 à 3 mètres de hauteur (figure 2.A), bien qu'il puisse parfois atteindre 9 à 12 mètres de hauteur (Tutin *et al.*, 1981 ; Seidemann, 1995). Il est capable de pousser sur des sols alcalins et relativement acides, avec un pH

compris entre 5 et 7,2 (Krussmann, 1982). En ce qui concerne ses parties, nous pouvons mentionner:

**Les fruits :**

Les fruits de l'arbousier sont remarquables, globuleux (figure 2.C) et prennent une teinte orange-rouge à maturité, atteignant un diamètre pouvant aller jusqu'à 2 cm (figure 2.B). Ils se distinguent par un rapport sucre/acide excessif et une teneur élevée en acides phénoliques non volatils et en composés terpénoïdes (Ayaz *et al.*, 2000 ; Alarco *et al.*, 2001). De plus, ils sont riches en éléments minéraux et en vitamine C (Baytop, 1984 ; Alarco *et al.*, 2001).

**Les feuilles :**

Les feuilles de l'arbousier sont simples, de forme oblongue, d'une couleur vert foncé (figure 2.D). Elles sont coriaces, à court pétiole et dentées, disposées de manière alternée. De plus, ces feuilles présentent une forte activité antioxydante (Pabuç *et al.*, 2003).

**La fleur :**

C'est une grappe de petites lanternes de couleur crème, blanche et rosée en automne (figure 2.D).

Cette plante contribue à maintenir la diversité de la faune, prévient l'érosion des sols, se régénère rapidement après les incendies et pousse dans des sols pauvres (Gomes et Canhoto, 2009). De plus, elle peut être utilisée pour la phytoremédiation, notamment contre la contamination par l'arsenic (Moreno *et al.*, 2008).



**Figure 2:** *Arbutus unedo* : arbre(A) ;fruits mûrs (B) et non mûrs (C) ;fleurs et feuilles (D) (Oliveira, 2010).

## 2. Classification

Classification taxonomique d'*A.unedo* (Mendes, 2010).

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Spermatophyta

**Sous-embranchement :** Angiospermae

**Classe :** Magnoliophyta

**Sous-classe :** Dilleniidae

**Ordre :** Ericales

**Famille :** Ericaceae

**Sous-famille :** Arbutoideae

**Genre :** *Arbutus*

**Espèce :** *Arbutus unedo* L.

## 3. Distribution géographique

L'arbousier, *Arbutus unedo* L, est un arbuste persistant qui présente une distribution circumméditerranéenne (figure 3). On le trouve en Europe occidentale, centrale et méridionale, ainsi qu'en Afrique du Nord, notamment en Algérie et en Tunisie (à l'exclusion de l'Égypte et de la Libye). Il est également présent dans les îles Canaries et dans l'ouest de l'Asie, là où les gelées ne sont pas très courantes et où la sécheresse estivale n'est pas très intense (Torres *et al.*, 2002 ; Kim,2012).



**Figure 3 :** Distribution d'*Arbutus unedo* en Europe et en Afrique du Nord (Caudullo *et al.*, 2017).

#### 4. Composition chimique

Une composition chimique distincte a été établie pour les différentes parties de *l'Arbutus unedo* L. Les analyses physico-chimiques effectuées par plusieurs auteurs ont montré l'existence de plusieurs espèces chimiques dans les fruits, les feuilles et les racines (Kechkar, 2008).

##### 4.1. Les composés phénoliques

Il est largement reconnu que de nombreuses plantes, notamment l'arbousier, sont riches en composés phénoliques (Tableau 1) et présentent une forte activité antioxydante *in vitro*. Cela suggère qu'elles pourraient avoir des effets thérapeutiques sur diverses pathologies chez les humains et les animaux (Morgado *et al.*, 2018).

**Tableau 1:** Les différents composés phénoliques présentés dans l'arbousier.

Partie de la plante	Composés phénoliques	Référence
<b>Feuille</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tanins</li> <li>• Flavonoïdes (catéchinegallate,myricétine, rutine, afzéline,juglanine,avicularine).</li> <li>• Glycosides d'iridoïdes</li> <li>• Glycosidesphénolique(quercitrine ,isoquercitrinhyproside)</li> <li>• L'arbutine</li> <li>• La gallate d'ethyle</li> <li>• Le catéchine</li> </ul>	(Legssyeretal.,2004 ; Carcacheetal.,2006 ; Males <i>et al.</i> ,2006 ).
<b>Fruit</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les acides phénoliques</li> <li>• Les flavonoïdes</li> <li>• Les anthocyanines</li> <li>• Les tanins catéchiques</li> <li>• Les tanins galliques</li> <li>• Les coumarines</li> <li>• Les quinones</li> <li>• Les anthraquinones</li> </ul>	(Miguel <i>et al.</i> , 2014 ; Haouari <i>et al.</i> ,2021).
<b>Racine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anthocyanines</li> <li>• Flavonoïdes</li> <li>• Quinones</li> <li>• Anthraquinones</li> <li>• Tanins</li> </ul>	(Dib <i>et al.</i> ,2013 )

#### 4.2. Autres composés

L'arbousier renferme une diversité de composés chimiques essentiels (tableau 2) qui contribuent à la composition nutritionnelle et aux propriétés biologiques des fruits et qui peuvent influencer leur goût, leur texture et leur valeur nutritive. Une analyse de la composition de l'*Arbutus unedo* a révélé une teneur élevée en différents types de glucides tels que les monosaccharides (fructose et glucose) et les disaccharides (saccharose). Les protéines constituent le deuxième macronutriment le plus important. L'arbousier est également une excellente source de minéraux, notamment de potassium et de calcium (Ayaz *et al.*, 2000 ; Özcan et Haciseferoğulları, 2007 ; Barros *et al.*, 2009), ainsi que de glucides, qui fournissent l'énergie principale à l'arbousier (Tonelli et Gallouin, 2013). Bien que les quantités de vitamines et de caroténoïdes présentes dans l'arbousier ne soient pas très élevées, il ne faut pas les négliger (Barros *et al.*, 2010). Ces éléments contribuent à la valeur nutritionnelle des fruits d'arbousier et à leurs bienfaits pour la santé.

**Tableau 2:** Les autres composés présentés dans l'arbousier.

Partie de la plante	Sucres	Autre	Référence
<b>Feuille</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arbutoside</li> <li>• Unédoside</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide arsuline</li> <li>• L'hydroquinone libre</li> </ul>	(Ait-youcef, 2006 ; Males <i>et al.</i> , 2006 ; Ali-delille, 2013 ; Migel <i>et al.</i> , 2014 ; Doukani et Tabak, 2015).
<b>Fruit</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fructose</li> <li>• Glucose</li> <li>• Saccharose</li> <li>• Maltose</li> <li>• Sucre totaux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau</li> <li>• Fibres alimentaires</li> <li>• Composés solides</li> <li>• Acides organiques</li> <li>• Protéines</li> <li>• Niacine</li> <li>• Acide ascorbique</li> <li>• <math>\beta</math>-carotène</li> <li>• Potassium K<sup>+</sup></li> <li>• Calcium ca<sup>+2</sup></li> </ul>	
<b>Racine</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Composés mutagènes</li> </ul>	

## 5. Utilisation

### 5.1. Utilisation thérapeutique

Les différentes parties de l'arbre fraisier ont une importance majeure dans la médecine populaire. Les feuilles présentent des propriétés diurétiques, astringentes, antidiabétiques et uro-antiseptiques notables (Jurica *et al.*, 2017 ; Morgado *et al.*, 2018 ; Cappadone *et al.*, 2019 ; Tenuta *et al.*, 2020). Les fruits de cet arbre sont également utilisés pour traiter des problèmes gastro-intestinaux, urologiques, cardiovasculaires et dermatologiques, grâce à leur effet diurétique, antiseptique et laxatif (Cappadone *et al.*, 2019). De plus, les décoctions d'écorce et de racines de l'arbre fraisier sont employées pour traiter les mêmes types de problèmes de santé (Tenuta *et al.*, 2020). La racine de l'arbre fraisier est couramment utilisée en médecine traditionnelle pour soulager la douleur abdominale, réduire le taux de cholestérol, traiter les maladies de la vessie et des reins, réguler le diabète en inhibant l'absorption de glucose dans l'intestin, traiter l'hypertension artérielle et les maladies cardiaques (Tenuta *et al.*, 2019). En outre, la racine de l'arbre fraisier est également reconnue pour son effet diurétique, anti-inflammatoire et anti-diarrhéique (Naceiri *et al.*, 2017 ; Tenuta *et al.*, 2019 ; Maldini *et al.*, 2019).

### 5.2. Utilisation culinaire

Les fruits de l'arbre à fraises sont principalement exploités pour leur usage culinaire. Ils sont riches en glucides (70-80% de leur poids sec) et contiennent une proportion importante de fibres (10-30% de leur poids sec), ce qui en fait une source intéressante de protéines végétales (1-9% de leur poids sec) et de lipides (2-3% de leur poids sec) (Morgado *et al.*, 2018 ; Aitlhaj *et al.*, 2021). Ces fruits sont transformés en produits traditionnels non alcoolisés tels que des confitures, des marmelades, des gelées, ainsi qu'en boissons alcoolisées comme le cidre, un distillat aromatique, du vin et de la liqueur. Toutefois, ils sont également consommés comme fruits frais (Sulusoglu *et al.*, 2011).

## 6. Toxicité

Selon différents tests de toxicité, l'utilisation d'*A. unedo* est dépourvue d'effets secondaires significatifs et/ou de toxicité. En effet, dans des tests de toxicité aiguë réalisés sur des souris, il a été démontré que l'administration orale d'un extrait aqueux de feuilles ou d'un extrait aqueux de racines d'*A. unedo* n'a entraîné aucune mortalité ni aucun signe d'effets indésirables (Haouari et Mekhfi, 2017 ; Mrabti *et al.*, 2018). De plus, dans une autre étude, un extrait aqueux de racines d'*A. unedo* a été administré par voie intra péritonéale chez des souris, les résultats n'ont montré aucun signe visible de toxicité ou d'effets indésirables, même à une dose de 6 g/kg de poids corporel (Bnouham *et al.*, 2007).

## **Chapitre 2 : Les polyphénols**

1. Définition

Les polyphénols constituent une famille de substances diverses et omniprésentes dans toutes les plantes vasculaires en tant que métabolites secondaires. Ils se caractérisent par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques avec des groupes hydroxyles (OH) (figure 4) et sont issus du métabolisme de l'acide shikimique et/ou du polyacétate (Sarni et Cheyner, 2006 ; Bruneton, 2009).

Leur capacité la plus remarquable réside dans leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO). En effet, la présence de polyphénols, de vitamines et d'acides phénoliques dans les fruits peut expliquer leur effet protecteur contre les maladies de civilisation telles que les maladies cardiovasculaires et le diabète ( Bruneton , 2009).

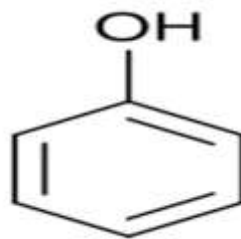


Figure 4: Structure de base d'un phénol (Laguerra *et al.*, 2007).

2. Classification

Les polyphénols englobent une grande variété de molécules comportant plusieurs groupes hydroxyles sur leurs cycles aromatiques. Ils sont classés en différents groupes en fonction du nombre d'anneaux phénoliques présents, ainsi que des composants structuraux qui les relient entre eux (figure 5). Parmi ces groupes, on peut mentionner les acides phénoliques, les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Luthria *et al.*, 2006).

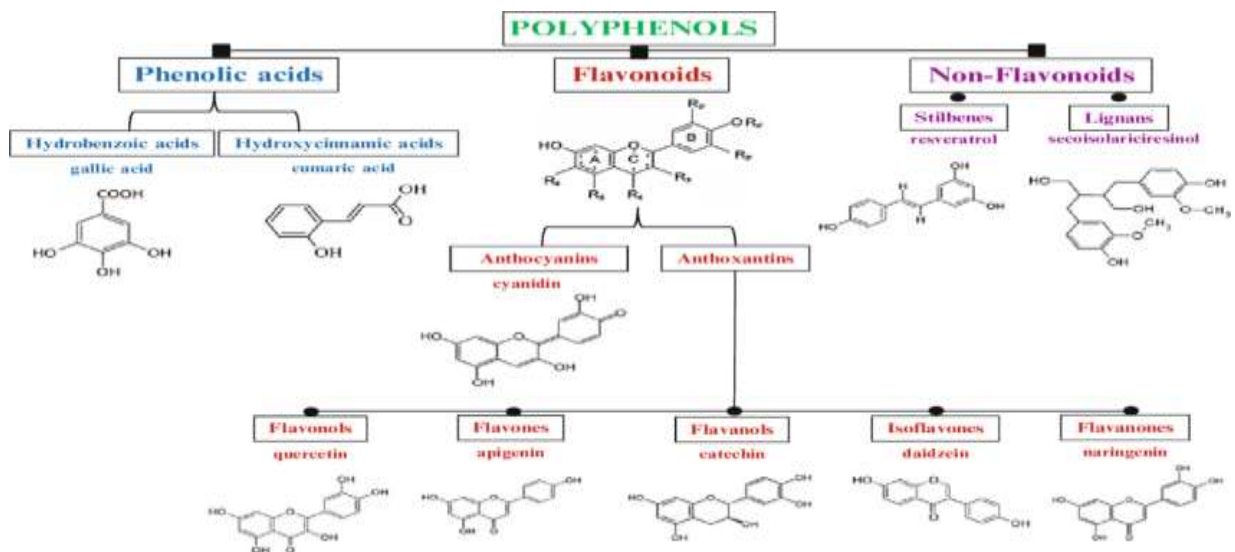


Figure 5: Classification générale des polyphénols (Scalbert *et al.*, 2000).

### 3. Voies de biosynthèse

La biosynthèse des polyphénols se fait par des voies principales, qui sont :

#### a. Voie de l'acide shikimique

Les polyphénols englobent une grande variété de molécules comportant plusieurs groupes hydroxyles sur leurs cycles aromatiques. Ils sont classés en différents groupes en fonction du nombre d'anneaux phénoliques présents, ainsi que des composants structuraux qui les relient entre eux. Parmi ces groupes, on peut mentionner les acides phénoliques, les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Luthria *et al.*, 2006).

En temps normal, environ 20 % du carbone fixé par les plantes est traité par cette voie, qui relie le métabolisme des glucides à la biosynthèse des composés aromatiques en produisant la structure de base : le noyau aromatique. Au cours de sept étapes métaboliques successives, le phosphoénolpyruvate (un intermédiaire de la glycolyse) et l'érythrose-4-phosphate (un intermédiaire de la voie des pentoses phosphates) sont convertis en chorismate, le précurseur des acides aminés aromatiques. Ces acides aminés donnent lieu à des composés phénoliques (C6-C1), formant des tanins hydrolysables et des chalcones, qui constituent la base de tous les flavonoïdes et tanins condensés (Collin et Crouzet, 2011). En plus de la phénylalanine, tous les intermédiaires de la voie peuvent être considérés comme des points de bifurcation vers d'autres voies métaboliques.

#### b. voie des phénylpropanoïdes

Bien que la biosynthèse de certains composés spécifiques tels que les alcaloïdes ou les coumarines puisse emprunter des voies différentes, la désamination de la phénylalanine est une étape fondamentale dans la production de la plupart des composés phénoliques naturels.

Cette réaction conduit à la formation de l'acide cinnamique, qui est la première molécule phénolique produite à partir du premier phénylpropane. Cette molécule joue un rôle central dans la voie des phénylpropanoïdes, qui connecte le métabolisme primaire du shikimate au métabolisme secondaire des phénylpropanoïdes. La voie des phénylpropanoïdes conduit directement à la formation d'acides tels que les acides hydroxycinnamique, p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (Bruneton, 2009).

#### c. Voie de l'acétate / malonate

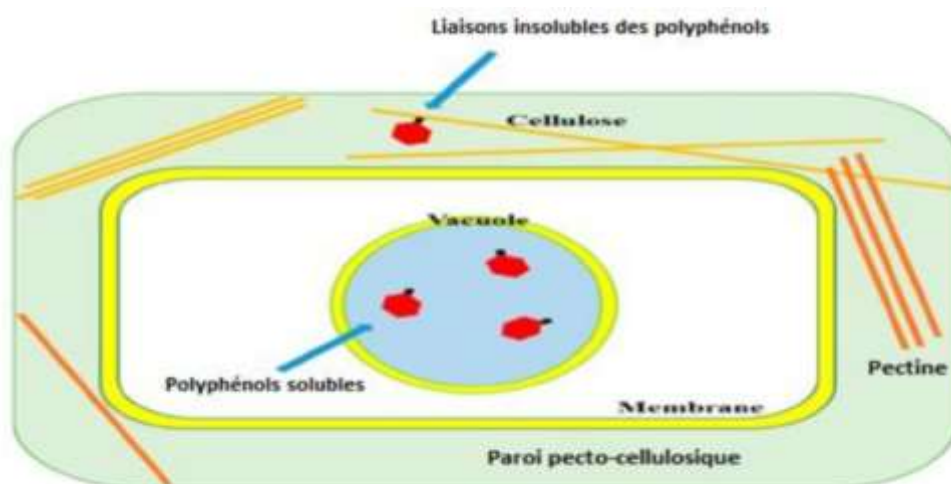
La formation de l'acétyl-CoA, qui est un composé essentiel dans la cyclisation des chaînes polycétoniques, est obtenue grâce à la glycolyse et à la  $\beta$ -oxydation. Pour réaliser la cyclisation, les chaînes polycétoniques sont formées par la condensation répétée d'unités "Acétate", en utilisant

l'acétyl-CoA produit par la carboxylation. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Xie et Schaich, 2014).

#### 4. Localisation des polyphénols dans la plante

Les composés phénoliques peuvent exister sous deux formes : solubles et insolubles. À l'échelle cellulaire, les polyphénols solubles se trouvent dans les vacuoles des cellules végétales. Lorsqu'ils sont incorporés dans une vacuole, la concentration élevée d'acides organiques à l'intérieur crée un environnement acide qui les retient (Shahidi et Yeo, 2016).

En revanche, les composés phénoliques insolubles se localisent dans les parois des cellules végétales. Ces composés sont synthétisés dans les organes intracellulaires (figure 6), principalement le réticulum endoplasmique, puis libérés et transportés vers la matrice de la vacuole ou de la paroi cellulaire par un système de transfert de vésicules. Ce système, constitué de petites bicouches lipidiques, permet le transport des composés phénoliques et facilite leur migration dans la matrice de la paroi cellulaire (Meyer *et al.*, 2009 ; Shahidi et Yeo, 2016).



**Figure 6:** Localisation des composés phénoliques solubles et insolubles dans les cellules (Shahidi et Yeo, 2016).

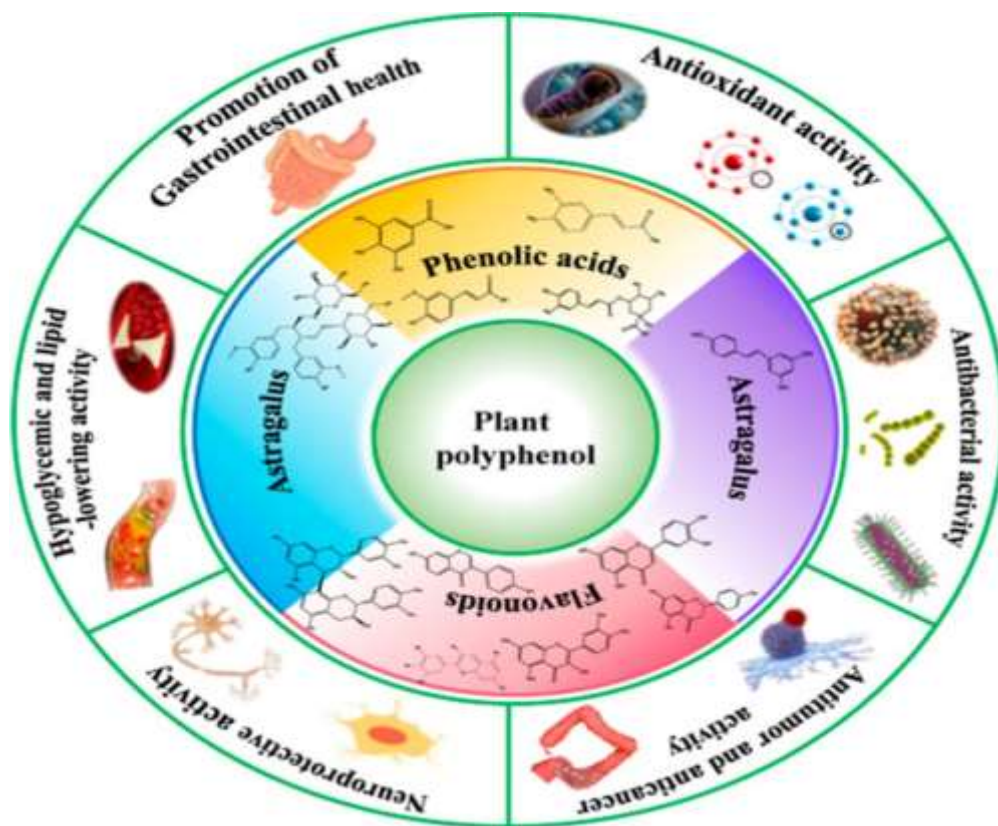
Les composés phénoliques transportés se lient à des macromolécules telles que des protéines structurales, la cellulose et la pectine par des liaisons covalentes, notamment des liaisons éther, ester et carbone-carbone, dans la matrice de la paroi cellulaire, formant ainsi des composés phénoliques insolubles (Shahidi et Yeo, 2016).

La localisation des polyphénols dans la plante est liée à leur fonction, certains composés phénoliques s'accumulent uniquement dans des organes spécifiques. Les couches externes de la

plante contiennent généralement plus de polyphénols que les parties internes (Shahidi et Yeo ,2016).

**5. Activités biologiques des polyphénols**

Actuellement, les propriétés des polyphénols font l'objet de nombreuses études dans le domaine médical. Leurs activités antivirales, anti-inflammatoires, antibactériennes et anticancéreuses sont largement reconnues. De plus, ils offrent une protection contre diverses maladies telles que l'athérosclérose, la maladie d'Alzheimer, d'autres affections neurologiques, le diabète et la cataracte (figure 7). Ces composés présentent un potentiel important pour maintenir la santé et prévenir diverses pathologies (Sinha, 2019).



**Figure 7:** Effets biologique des polyphénols ( yan *et al.*,2020).

**5.1 Activité antioxydante des polyphénols**

Les composés polyphénoliques se trouvent couramment dans les plantes comestibles et non comestibles, et il a été signalé qu'ils ont des effets biologiques multiples, notamment une activité antioxydante (Kähkönen *et al.*,1999). Ces composés phénoliques agissent en tant qu'antioxydants en neutralisant les radicaux libres par la donation d'un électron ou d'un atome d'hydrogène. Leur structure confère une importante activité antioxydante, tandis que les groupes hydroxyle des polyphénols agissent en tant que donneurs d'atomes d'hydrogène et peuvent réagir avec les espèces

réactives de l'oxygène et de l'azote. En conséquence, le cycle de formation de nouveaux radicaux est interrompu (Boubekri, 2014).

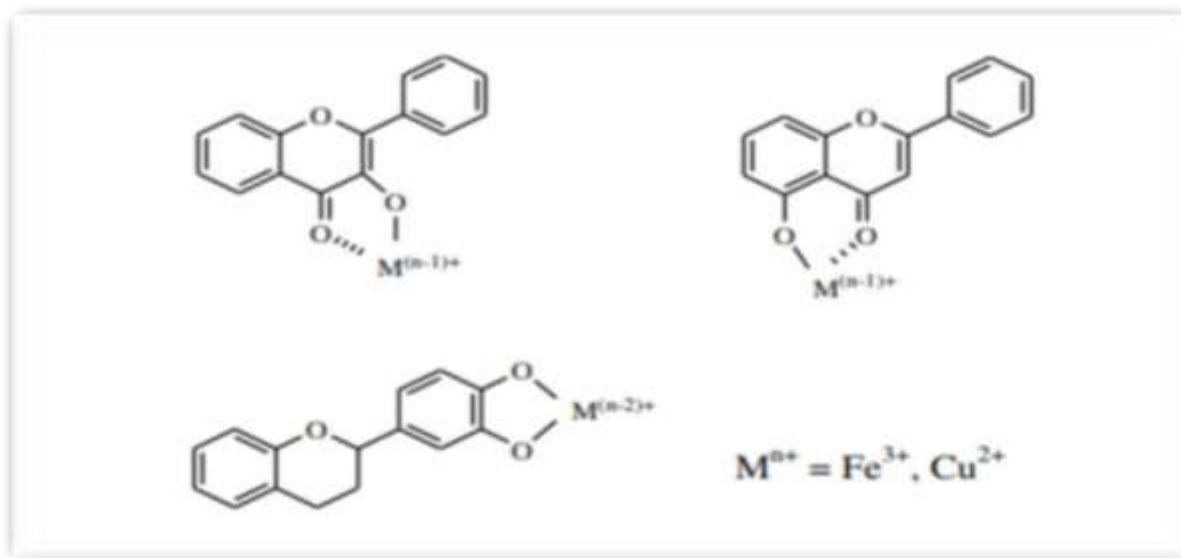
### 5.1.1 Mécanismes antioxydants des polyphénols

Les principaux mécanismes antioxydants des polyphénols sont :

#### a. Piégeage ou réduction des radicaux libres

Les composés phénoliques, en particulier des flavonoïdes, s'expliquent par leur capacité à piéger différents types de radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ), les anions superoxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) et les radicaux peroxylipidiques. Cette capacité est liée à leur structure chimique (figure 8), qui comporte plusieurs éléments clés, notamment la présence de :

- La structure 3',4'-dihydroxy présente sur le cycle B est indispensable à l'activité des flavonoïdes qui contiennent un hétérocycle saturé.
- Les flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé ont une activité antiradicalaire qui dépend de la présence de la double liaison C2-C3 conjuguée avec le groupe oxo ( $\text{C4}=\text{O}$ ) sur le noyau B. Cette structure permet la délocalisation d'électrons du noyau B, ce qui renforce l'activité antiradicalaire de ces composés.
- Les groupes hydroxyles situés en positions C3 et C5, qui sont nécessaires pour obtenir une activité maximale (Boubekri, 2014).



**Figure 8:** Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage (Dangles, 2006).

#### b. Chélation des ions métalliques

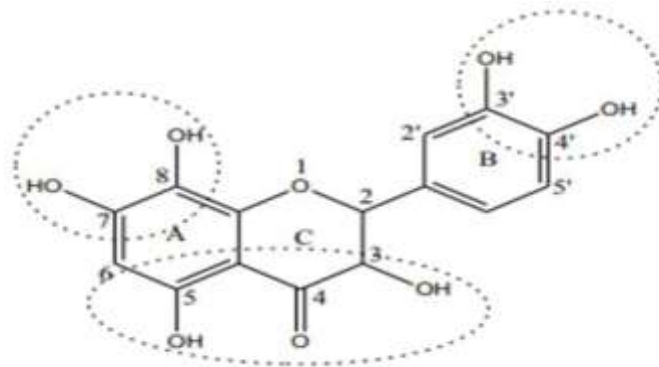
La capacité des composés phénoliques à piéger les radicaux libres, leur activité antioxydante peut également résulter de leur capacité à chélater et/ou réduire les ions de métaux tels

que le fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ). Ces métaux catalysent la formation de radicaux libres en abstrayant l'hydrogène, favorisent également la décomposition des hydroperoxydes ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ou participent à la production du radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ) dans la réaction de Fenton (Craft *et al.*, 2012).



Des études ont montré que les flavonoïdes ont la capacité de chélater les métaux et l'efficacité de ce processus dépend du nombre de groupes hydroxyle présents ainsi que du pH du milieu. Il existe trois sites de coordination principaux, illustrés dans la (Figure 9):

- 5-OH (cycle A) et le groupe 4-carbonyl (cycle C).
- 3-OH et le groupe 4-carbonyl (tous deux dans le cycle C) 3'-OH et 4'-OH dans le cycle B (Olszowy *et al.*, 2019).



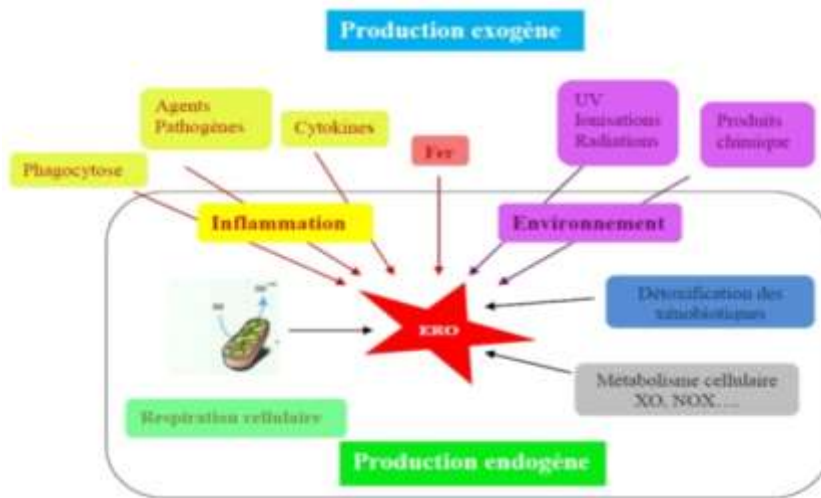
**Figure 9:** Sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes (Amic *et al.*, 2003).

### c. Inhibition des enzymes productrices des ERO

Les polyphénols ont un rôle important dans la suppression des enzymes génératrices des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les systèmes biologiques en formant des complexes inhibiteur-enzyme (Olszowy *et al.*, 2019). L'enzyme xanthine oxydase est connue pour être impliquée dans la lésion oxydative des tissus lors de la reperfusion post-ischémique, et certains flavonoïdes tels que l'apigénine, la lutéoline et le kaempférol peuvent agir comme inhibiteurs compétitifs de cette enzyme en empêchant la fixation de son substrat spécifique, la xanthine, (Acuña *et al.*, 2014).

En outre, l'apocynine et l'épicatéchine sont également connus pour inhiber l'activité de la NADPH oxydase, en interférant avec l'assemblage ou en inhibant l'expression de ses différentes sous-unités.

Enfin, la monoamine oxydase liée aux mitochondries, qui est une autre enzyme productrice d'ERO (figure10), peut être modulée de manière inhibitrice par certains polyphénols tels que la cyanidine et la curcumine (Acuña *et al.*, 2014).



**Figure 10:** les sources des ERO (Khane et Wang ,2018).

### 5.2. Autres activités

Les composés polyphénoliques sont de plus en plus utilisés en thérapeutique. De nombreuses études suggèrent que les polyphénols contribuent à la prévention des maladies cardiovasculaires. Leur consommation entraîne une augmentation temporaire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Une fois arrivés au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL), qui est l'un des facteurs clés du processus physiopathologique de l'athérosclérose. En inhibant l'oxydation des LDL, ils limitent leur accumulation dans les parois des artères, qui contribue à l'épaississement des parois et à la réduction du flux sanguin qui atteint les tissus.

Les polyphénols agissent également en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculo-protecteurs (Benavente *et al.* , 2000 ; Borochoy *et al.* , 2008 ; Martin *et al.* , 2013 ).

Certains composés polyphénoliques font également l'objet d'études cliniques en tant qu'antiagrégants plaquettaires ou hypotenseurs, mais sans résultats probants.

Les polyphénols sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques de qualité alimentaire, notamment lorsqu'une plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée à la teneur en composés phénoliques. Ces composés ont des propriétés antioxydantes, anticarcinogènes

(Zhou *et al.*, 2017), anti-inflammatoires (Taïlé, 2021), antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques (Manach *et al.*, 2005 ; Gormaz *et al.*, 2016), antibactériennes (Chaker, 2021), antivirales, anti-allergènes et vasodilatatrices (Manallah, 2012).

### 6. Facteurs de variabilité des polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels présents dans une grande variété de plantes, de fruits, de légumes et de boissons (Wink, 1997). Toutefois, leur quantité peut varier considérablement en fonction de divers facteurs tels que les conditions de croissance, les conditions de récolte, la transformation des aliments et les facteurs alimentaires, ainsi que la solubilité qui présente une propriété physico-chimique des composés phénoliques qui affecte considérablement leur variabilité (Wink, 1997).

Des facteurs liés à l'hôte tels que l'âge, le sexe, les conditions physiologiques, la microflore colique et l'activité enzymatique peuvent également jouer un rôle important dans cette variabilité.

De plus, l'interaction des composés phénoliques avec d'autres composés lors de l'ingestion peut également influencer leur quantité (Archivio *et al.*, 2010).

Cependant, les polyphénols présentent une grande volatilité, une instabilité et une sensibilité à la lumière, à la chaleur (Sauvage *et al.*, 2010) et à l'oxygène (Leonardis *et al.*, 2013; Volf *et al.*, 2014). Pour préserver leur propriété antioxydante (Fang et Bhandari, 2010), il est possible d'améliorer leur stabilité (Volf *et al.*, 2014), leur bioactivité (Taamalli *et al.*, 2012) et leur biodisponibilité (Williamson et Manach, 2005) en utilisant des supports polymères.

## **Chapitre 3 : Encapsulation**

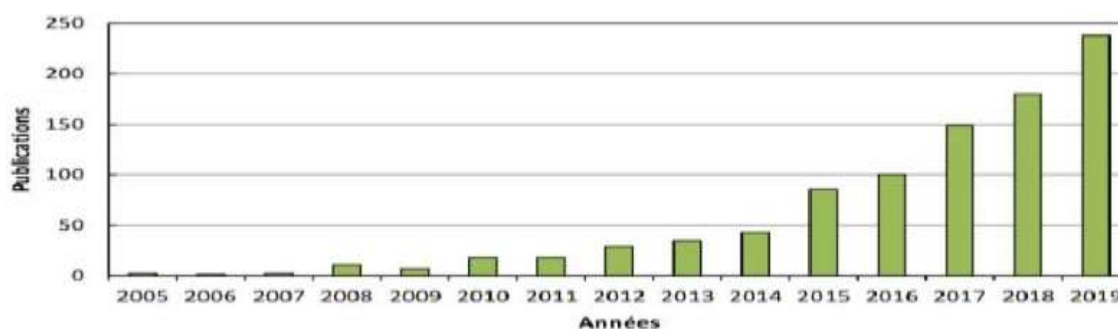
## 1. Généralité

En général, l'encapsulation se réfère au processus d'incorporation d'une substance active à l'intérieur d'une autre substance de revêtement. Cette approche technologique est largement utilisée pour protéger les principes actifs contre les réactions indésirables avec l'environnement ou d'autres composants, que ce soit pendant le stockage ou lors de leur ajout à une matrice alimentaire. De plus, l'encapsulation permet de contrôler le taux de libération de l'ingrédient encapsulé, offrant ainsi un avantage économique à l'industrie alimentaire en améliorant l'efficacité des ingrédients bioactifs sans nécessiter des quantités excessives. En élargissant la gamme de produits bioactifs disponibles, l'encapsulation permet également de protéger les matériaux encapsulés contre des conditions extrêmes telles que l'humidité et la chaleur, améliorant ainsi leur stabilité et leur viabilité (Dhakal et He, 2020).

## 2. Objectif d'encapsulation

L'encapsulation est une technique qui consiste à enfermer des molécules bioactives, souvent sensibles à des conditions environnementales telles que la température, l'humidité ou les micro-organismes, dans une matrice protectrice. Cette méthode permet de préserver l'activité biologique des molécules, d'optimiser leur libération dans le temps, d'améliorer leur stabilité physique et de faciliter leur ciblage et leur biodisponibilité (Donsi *et al.*, 2011 ; Fathi *et al.*, 2012). Les molécules bioactives peuvent ainsi être protégées de la dégradation et d'une libération prématurée lors de l'ingestion. Cette technique, qui est couramment utilisée dans le domaine pharmaceutique, est de plus en plus employée en agroalimentaire pour l'encapsulation d'antimicrobiens sensibles, de composés aromatiques ou ayant des propriétés nutraceutiques (Desai *et al.*, 2005 ; Donsi *et al.*, 2011).

La base de données Pubmed (Figure 11) montre que le nombre de publications par an considérant «food, encapsulation et nano\*» comme mots clés est passé de 3 à 238 entre 2005 et 2019.



**Figure 11:** Publications avec les mots clés « food, encapsulation and nano » de 2005 à 2019 (Base de données Pubmed).

### 3. Techniques d'encapsulation pour les composés phénoliques

Le processus d'encapsulation vise à établir une barrière protectrice entre les composés bioactifs sensibles, tels que les polyphénols, et leur environnement. Cette technique permet de préserver ces composés contre les facteurs dégradants tels que les températures élevées et l'exposition à l'oxygène. De plus, l'encapsulation des composés phénoliques au moyen de matériaux de revêtement permet de contrôler leur libération dans différents milieux, afin d'atteindre des objectifs spécifiques et d'améliorer leur biodisponibilité et leur bioaccessibilité. En outre, l'encapsulation peut également masquer les goûts ou les odeurs indésirables associés aux polyphénols, tels que l'amertume et l'astringence (Nedovic *et al.*, 2011).

Il existe diverses approches d'encapsulation, comprenant des méthodes physiques, chimiques et physico-chimiques (figure12). Le choix de la méthode d'encapsulation dépend du type de polyphénols à encapsuler et de leurs caractéristiques spécifiques (Jia et Dumont, 2016).

#### 3.1. Séchage par pulvérisation

Le séchage par pulvérisation est une méthode d'encapsulation largement utilisée pour sa continuité, sa flexibilité et son économie. Elle implique la conversion d'un liquide en poudre dans un environnement de séchage chaud, ce qui facilite le transfert de chaleur (Jafari, 2017). Les matériaux de paroi, tels que l'amidon modifié, la gomme, la maltodextrine, sont mélangés avec le matériau de base avant d'être introduits dans un séchoir par pulvérisation (Maqsoudlou *et al.*, 2020). L'air chaud évapore l'eau, et les capsules sont collectées (Fang et Bhandari, 2010).

Les résultats de l'étude menée par Fang et Bhandari(2011) indiquent que pour encapsuler des polyphénols sensibles, comme ceux du jus de myrtille, avec une bonne rétention des polyphénols. Des études ont montré que les poudres contenant du jus de myrtille doivent être stockées à des températures et des activités de l'eau spécifiques pour optimiser la stabilité des polyphénols. Dans d'autres études menée par Robert *et al.* (2010) les polyphénols et les anthocyanines du jus de

grenade ont été encapsulés avec succès en utilisant de la maltodextrine ou des isolats de protéines de soja, avec une récupération élevée. Les isolats de protéines de soja peuvent être une alternative à la maltodextrine pour l'encapsulation de polyphénols dans les produits alimentaires.

### 3.2. Coacervation

La microencapsulation par coacervation implique la séparation de phases d'hydrocolloïdes de la solution principale, suivie de la formation d'une suspension de coacervat autour des composés bioactifs dans le même milieu (Maqsoudlou, 2020). Des micelles de noyau de coacervation complexe ont été obtenues avec succès pour administrer efficacement les polyphénols de thé. Un conjugué gélatine-dextrane a été synthétisé par réaction de Maillard, puis mélangé avec les polyphénols de thé. La formation des micelles de coacervation était due à des interactions hydrophobes et à des liaisons hydrogène plutôt qu'à des interactions électrostatiques. Le noyau des micelles contenait une combinaison de gélatine et de polyphénols de thé, avec des segments de dextrane dans la paroi. La libération prolongée des polyphénols de thé libres contre les cellules MCF-7 (Zhou, 2012). polyphénols de thé encapsulés par coacervation a été vérifiée *in vitro*, et les micelles de coacervation complexe ont montré une cytotoxicité égale ou supérieure à celle des polyphénols.

### 3.3. Émulsion

Les émulsions est une méthode courante d'encapsulation pour protéger et délivrer les polyphénols. Ce processus implique la dispersion de deux liquides non miscibles pour encapsuler efficacement les polyphénols tout en offrant une stabilité chimique et une délivrance ciblée (Kelly et Miao, 2016). Les émulsions peuvent prendre plusieurs formes, y compris les émulsions à une seule couche, à plusieurs couches et multiples (Gharehbeglou *et al.*, 2019). Les chercheurs ont créé des émulsions huile dans eau stabilisées par  $\kappa$ -carraghénane et  $\beta$ -lactoglobuline pour encapsuler l'EGCG en utilisant une technique de homogénéisation haute pression. Les émulsions ont maintenu leur stabilité pendant 14 jours de stockage avec une taille de particules de 400 nm. Cependant, les concentrations d'EGCG supérieures à 0,5% ont provoqué une instabilité significative des émulsions en raison de la liaison entre l'EGCG et la  $\beta$ -lactoglobuline, ce qui a été révélé par la diffusion de la lumière et l'augmentation de la taille des gouttelettes (Huang, 2010).

En outre, l'EGCG encapsulé dans l'émulsion huile dans eau a présenté une activité anticancéreuse plus élevée que l'EGCG libre. Des complexes électrostatiques ont été développés pour protéger les polyphénols contenus dans l'extrait de pépins de raisin en les incorporant dans des émulsions W1/O/W2 (Estévez *et al.*, 2019). Ces complexes étaient constitués de 0,5% de caséinate de sodium et de 0,375% de carboxyméthylcellulose ou de 0,5% de gomme arabique à pH = 5,6. Ils

ont été utilisés comme émulsifiants hydrophiles dans les émulsions W1/O/W2 pour stabiliser l'interface O/W2 pendant 14 jours. Les chercheurs ont constaté que les différents types d'émulsifiants hydrophiles n'ont pas eu d'effet significatif sur le taux de libération des polyphénols au fil du temps. Cela est dû au fait que le transport des polyphénols dans les émulsions W1/O/W2 était principalement contrôlé par la diffusion. Cependant, le principal facteur limitant la rétention des polyphénols était l'adsorption interfaciale (Estévez *et al.*, 2019).

### 3.4. Lyophilisation

La lyophilisation est une méthode de déshydratation par sublimation qui est souvent utilisée pour encapsuler des agents sensibles en raison de la basse température appliquée (Wilkowska *et al.*, 2016). Sanchez *et al.* (2013) ont réussi à encapsuler des polyphénols de vin rouge dans du maltodextrine par lyophilisation. Ils ont lyophilisé une solution de maltodextrine DE10 dans du vin rouge argentin (Cabernet Sauvignon) à une concentration de 20% p/p. Au cours de ce processus, l'eau et éthanol ont été éliminés, ce qui a créé une microstructure vitreuse amorphe de maltodextrine contenant les polyphénols de vin, sans perte significative de polyphénols totaux. La poudre obtenue était stable pendant 15 jours à une température de 38° C.

### 3.5. Co-cristallisation

La co-cristallisation modifie la structure cristalline du saccharose en une cristallisation irrégulière agglomérée, créant ainsi une matrice poreuse pour charger des composés bioactifs (Fang et Bhandari, 2010). Pour cela, une haute température (120°C) et une faible humidité (95-97°Brix) sont nécessaires. Les composés bioactifs ajoutés combleront les espaces vides à l'intérieur des agglomérats de cristaux microscopiques. Cette technique améliore l'homogénéité, la solubilité, la mouillabilité, la dispersibilité, l'hydratation, l'anticompaction, la fluidité et la stabilité des composés chargés (Fang et Bhandari, 2010). De plus, elle permet d'obtenir des poudres séchées directement à partir de matériaux liquides, sans besoin de séchage supplémentaire. Les produits obtenus offrent des caractéristiques de compression directe, ce qui est avantageux pour les industries de la confiserie et pharmaceutique (Maqsoodlou *et al.*, 2020). Dans une étude menée par Deladino *et al.* (2010) a montré que l'encapsulation d'un extrait de *yerba mate* a été réalisée en utilisant la co-cristallisation dans une solution de saccharose sursaturé, formant des grappes agglomérées avec des espaces vides de 2 à 30 mm, réduisant ainsi les propriétés hygroscopiques de l'extrait sans compromettre sa solubilité. Dans Une autre étude López *et al.* (2014) ont préparé des poudres contenant des polyphénols de *yerba mate* par co-cristallisation, démontrant une capacité élevée de charge sans affecter significativement l'activité antioxydante de l'extrait. La co-cristallisation est

donc une bonne alternative pour la conservation des antioxydants et peut être utilisée comme agent antioxydant dans la formulation d'aliments fonctionnels.

### 3.6. Liposomes

Les liposomes sont des particules sphériques formées de bicouches phospholipidiques concentriques dans un milieu aqueux. Bien que leur application dans l'industrie alimentaire, les Liposomes sont utilisées pour la microencapsulation d'aliments (Taylor *et al.*, 2005 ; Đorđević *et al.*, 2015) . Le processus de formation des liposomes repose sur les interactions hydrophiles\_ hydrophobes entre les phospholipides et les molécules d'eau (Zuidam et Shimoni, 2010 ; Dima *et al.*, 2015; Summerlin *et al.*, 2015). En effet les polyphénols ont des formes liposomales et une solubilité différente dans les tensioactifs en fonction de leur structure. La stabilité des liposomes sera donc optimale en fonction du polyphénol utilisé (Mignet *et al.*, 2013).

### 3.7. Inclusion

L'inclusion moléculaire utilise des cyclodextrines comme matériaux de paroi pour former des complexes avec des composés invités plus petits. Les cyclodextrines, dérivées de l'amidon, sont des oligosaccharides cycliques avec une structure en forme de cylindre (Yadav *et al.*,2016) . Parmi les types de cyclodextrines, la  $\beta$ -cyclodextrine est souvent utilisée en raison de sa disponibilité et de son coût de production (Madene *et al.*, 2006 ; Fang et Bhandari, 2010). Les complexes de cyclodextrine permettent l'inclusion d'ingrédients bioactifs tels que les polyphénols, améliorant ainsi leur solubilité et leur activité (Đorđević *et al.*, 2015). Des études ont montré que l'encapsulation de polyphénols dans des complexes de cyclodextrine présente des effets bénéfiques tels que des propriétés anti-inflammatoires, antiprolifératives et une meilleure biodisponibilité (Ramirez *et al.*, 2014).

### 3.8. Nanoparticules

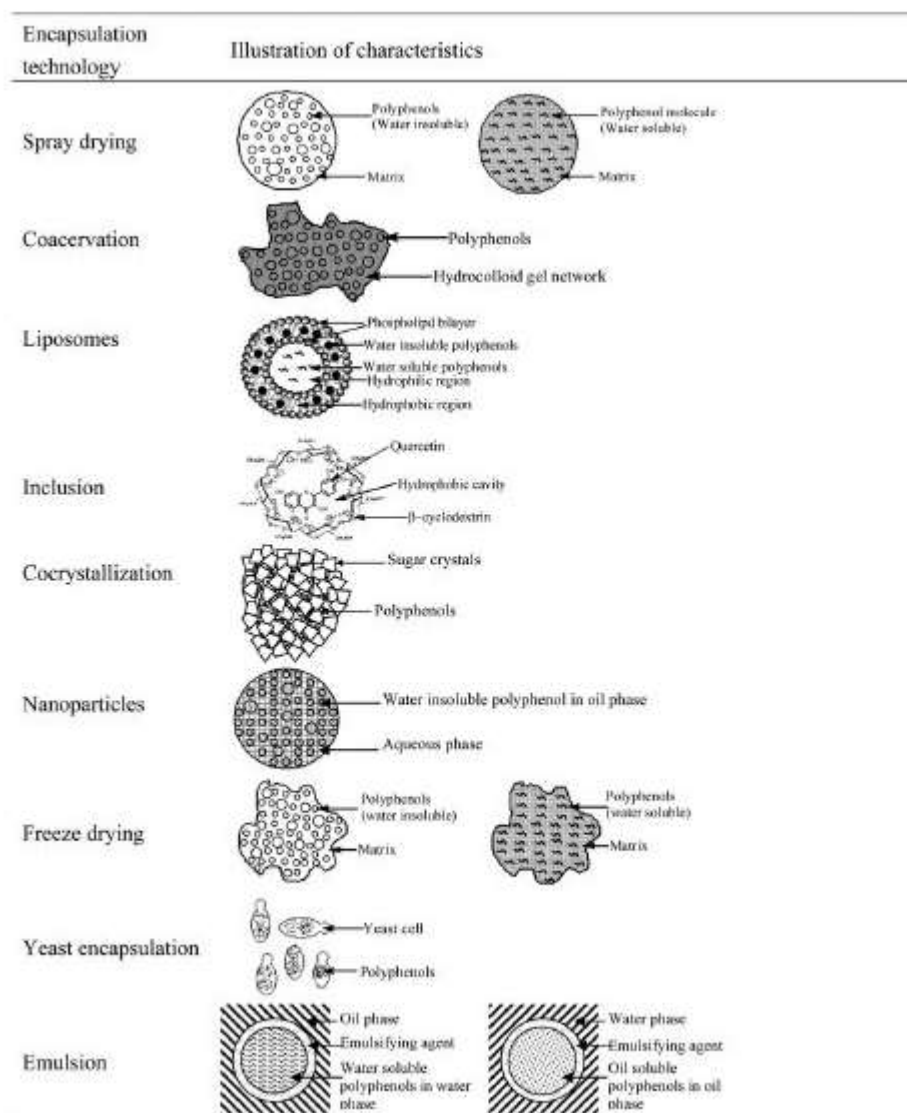
C'est une technique utilisée pour créer des nanocapsules à partir de deux phases distinctes : un solvant organique et un non-solvant aqueux (Simchua *et al.* ,2011). Dans la phase organique, il y a une ou plusieurs solutions contenant un polymère (naturel ou synthétique), une substance active, de l'huile et un tensioactif (huile-eau), tandis que la phase aqueuse est un non-solvant ou un mélange de non-solvants ( Chorny *et al.* ,2002) . La méthode consiste à intégrer la phase organique dans la phase aqueuse pour former une suspension colloïdale, en contrôlant les conditions telles que l'écoulement et l'agitation de la phase aqueuse, afin d'obtenir des particules d'une taille inférieure à 100 nm (Chidambaram et Krishnasamy,2014).

### 3.9. Encapsulation à l'intérieur de cellules de levure

Une technique populaire pour encapsuler les polyphénols est l'utilisation de cellules de levure pour former une barrière protectrice autour des composés. La levure la plus couramment employée est *Saccharomyces cerevisiae*, qui est disponible en grande quantité et peu coûteuse grâce à son utilisation comme déchet dans l'industrie brassicole. Les composés bioactifs peuvent traverser la paroi cellulaire et la membrane sous certaines conditions de temps et de température dans un mélange de solution particulier (Mokhtari *et al.*,2017). Les cellules de levure fournissent une protection efficace contre les stress environnementaux (Maqsoudlou *et al.*,2020), assurant ainsi la stabilité des composés bioactifs.

Pour illustrer l'efficacité de la technique d'encapsulation à l'intérieur de cellules de levure Estévez *et al.*(2019),Ont chargé de l'acide chlorogénique dans des cellules de levure en utilisant un traitement spécifique à base de chlorure de sodium à 54°C pendant 24 heures pour l'autolyse. Les résultats ont montré que l'acide chlorogénique encapsulé dans les cellules de levure était très stable face aux stress humides et thermiques, et avait également des profils de libération stables (Xiang *et al.*, 2007).

D'autres études ont également été menées pour encapsuler le marc de raisin dans les cellules de levure en utilisant *Saccharomyces cerevisiae* (Rubio *et al.*,2018). Les composés phénoliques ont été extraits et mélangés avec la levure avant d'être atomisés dans un séchoir par pulvérisation à l'échelle pilote. Les résultats ont montré que les polyphénols encapsulés dans les levures étaient mieux protégés et libérés dans l'intestin que les polyphénols libres. Cette technique est donc efficace pour protéger et délivrer les polyphénols dans l'intestin (Rubio *et al.*,2018).



**Figure 12:** Illustration des caractéristiques de capsules polyphénoliques encapsulées (Fang et Bhandari ,2010).

# **Partie expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

### 1. Matériel

Cette étude a été menée au laboratoire de Biochimie de la Faculté des Sciences de l'Université 20 Août 1955 Skikda, sur une période s'étalant de février à mars 2023. L'objectif de cette recherche est d'évaluer l'impact de l'encapsulation dans des cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae* (intactes et plasmolysées) sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de l'arbousier *Arbutus unedo*.

#### 1.1. Matériel végétal

Le spécimen végétal utilisé dans cette étude est l'arbousier, également connu sous le nom scientifique *Arbutus unedo* L. L'échantillonnage a été effectué manuellement le 15 février 2023 dans la commune de Beni Zid, Collo, (figure 13) dans la wilaya de Skikda (longitude : 6,50562°, latitude : 36,808°, altitude : 214 m).



**Figure 13:** Carte géographique montre la région de récolte (www. Google.com).

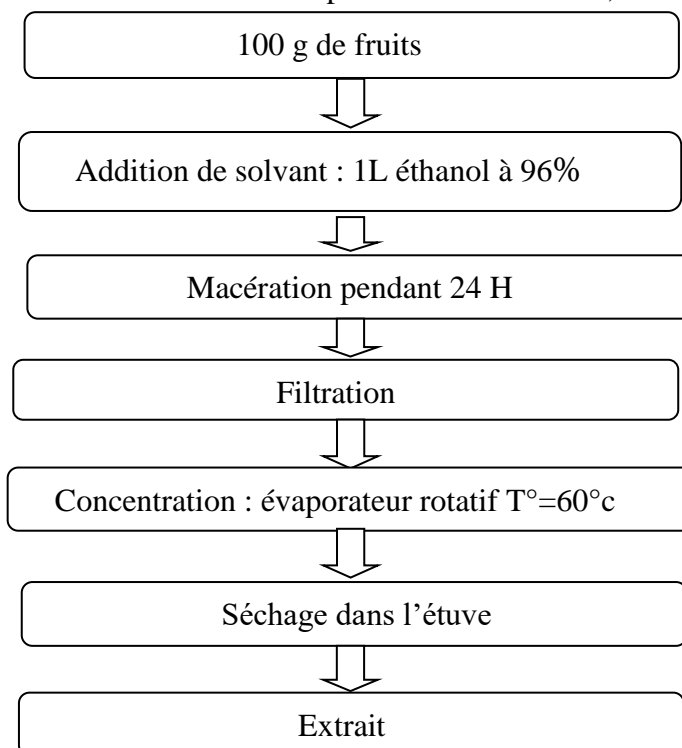
Cette commune est située à une distance de 92 km de la wilaya de Skikda. Nous avons sélectionné les parties comestibles de la plante, à savoir les fruits (figure14), qui ont été soigneusement récoltés et placés dans des sacs en plastique pour être transportés au laboratoire en vue des analyses ultérieures. Les échantillons ont été préalablement débarrassés de tout débris (parties mortes, organes altérés) et soigneusement lavés avant d'être utilisés.



**Figure 14:** Fruits de l'arbousier *Arbutus unedo* L (photo originale, 2023).

### 1.2 Extraction des polyphénols

Les polyphénols de l'arbousier *Arbutus unedo* sont extraits par macération, en suivant la méthode décrite par Pierson *et al.*(2015 )avec quelques modifications. Cette méthode implique de laisser le matériel végétal en contact prolongé avec un solvant afin d'en extraire les principes actifs. Pour cela, un échantillon de 100 g de fruits d'arbousier préalablement broyés et mélangé avec 1 L d'éthanol à 96%. Le mélange est ensuite agité pendant une heure, suivi d'une période de macération dans l'obscurité pendant 24 heures. La séparation des extraits phénoliques est réalisée par filtration, puis le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Enfin, les extraits obtenus sont séchés.



**Figure 15:** Protocole d'extraction des polyphénols (Pierson *et al.*, 2015 ).

### 2. Méthodes

#### 2.1. Préparation de la souche de *Saccharomyces cerevisiae*

La souche de *Saccharomyces cerevisiae* a été utilisée. Les cellules de levure ont été cultivées sur des boîtes de Pétri contenant un milieu sabouraud pendant 48 heures à une température de 27 °C. Ensuite, ces cellules ont été utilisées pour ensemencer le milieu liquide de bouillon nutritif à une densité optique de 0,2 (DO 600) et cultivées à une température de 27 °C avec une agitation de 140 tours par minute. Les cellules ont été récoltées pendant la phase de croissance logarithmique moyenne et ont été lavées trois fois avec de l'eau physiologique stérile (pH2O) en utilisant une centrifugation à 4000 tours par minute pendant 10 minutes (Nguyen *et al.*, 2018).

#### 2.2. Plasmolyse des souches de levures

Une quantité de 40 grammes de levure a été dissoute dans un volume de 500 ml d'une solution de NaCl à 10%. Par la suite, ce mélange a été soumis à un processus de plasmolyse d'une durée de 24 heures, à une température de 55°C. La levure a ensuite été séparée par centrifugation, en utilisant une force de 2000g pendant une durée de 10 minutes. Le précipité obtenu a été soigneusement lavé à l'aide d'eau distillée, suivi d'une agitation à température ambiante pendant une durée d'une heure, dans le but d'éliminer le NaCl résiduel. Une nouvelle centrifugation a été réalisée par la suite. Ce processus de lavage a été répété deux fois. Enfin, les cellules de levure ont été déshydratées par lyophilisation ( Kurek *et al.*,2023).

#### 2.3. Micro encapsulation des composés phénoliques

L'encapsulation des extraits phénoliques, que ce soit dans des cellules de levure intactes ou plasmolysées, a été réalisée dans un milieu aqueux en respectant un rapport de 5:1 en masse entre la levure (intacte ou plasmolysée) et l'extrait. Pour cela, un hydromodule de 1:100 a été utilisé. Le processus d'encapsulation a été effectué dans un agitateur thermostatiquement contrôlé à une vitesse de 200 tours par minute, maintenant une température constante de 37 °C pendant une durée de 24 heures. Par la suite, l'efficacité de l'encapsulation a été mesurée (Kalinina *et al.*, 2022).

#### 2.4. Efficacité d'encapsulation

Le calcul de l'efficacité d'encapsulation est utilisé pour évaluer la capacité des levures intactes et plasmolysées à encapsuler les polyphénols, en mesurant le pourcentage de polyphénols encapsulés par rapport à leur concentration initiale avant l'encapsulation. Afin d'extraire les polyphénols totaux encapsulés, une quantité de 0,2 g de poudre a été mélangée avec 2 ml d'un solvant composé de l'éthanol, d'acide acétique et d'eau (50:8:42, v/v/v). Ce mélange a été agité pendant 30 minutes pour permettre une extraction efficace. Après l'extraction, le mélange a été soumis à une centrifugation à une vitesse de 3000 tours par minute pendant 10 minutes afin de

## Matériel et méthodes

---

séparer les particules solides. Les concentrations de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins ont ensuite été déterminées à l'aide de méthodes spectrophotométriques (Robert *et al.*, 2010).

La formule suivante est utilisée pour calculer l'efficacité d'encapsulation des composés phénoliques :

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

TPE : correspond à la concentration totale de polyphénols, flavonoïdes et tanins encapsulés ; TPT : désigne la concentration de composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins) de l'extrait non encapsulé (Cegledi *et al.*, 2022).

### 2.5. Dosage des composés phénoliques

#### 2.5.1. Dosage des polyphénols totaux

La méthode la plus fréquemment utilisée pour quantifier les polyphénols totaux consiste en l'emploi du réactif Folin-Ciocalteu, qui se compose d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Au moment de l'oxydation des phénols, le réactif se réduit en une combinaison d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, produisant une teinte qui absorbe la lumière à une longueur d'onde comprise entre 725 et 750 nm. Cette coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. Dans le cas des extraits de l'arbousier, 2 ml de l'extrait sont mélangés à 0,2 ml de réactif Folin-Ciocalteu et 1,4 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5% (m/v).

Le mélange est incubé à température ambiante, dans l'obscurité, pendant 2 heures, puis la lecture des absorbances sont réalisées à 760 nm, en utilisant un spectrophotomètre UV-1800 (Shimadzu). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique / g d'extrait sec, en utilisant une courbe d'étalonnage de l'acide gallique, qui est obtenue avec 6 concentrations variant de 0 à 1 mg/ml (Waterhouse, 1999).

#### 2.5.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de quantification des flavonoïdes utilisée repose sur la technique décrite par Chang *et al.* (2002), mais avec quelques modifications mineures. Cette méthode implique la formation d'un complexe très stable entre les atomes d'oxygène situés sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes et le chlorure d'aluminium, qui donne une couleur jaune et absorbe dans le visible à 415 nm. Pour mesurer les flavonoïdes dans les extraits de l'arbousier, on mélange 0,2 ml d'extrait avec 1,72 ml d'éthanol à 96%, 0,4 ml de chlorure d'aluminium à 10%, et 1 ml d'acétate de sodium 1M.

## Matériel et méthodes

---

Ensuite, on agite le mélange et on le laisse incuber dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes avant de mesurer l'absorbance à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-1800 (Shimadzu). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec en se basant sur une courbe d'étalonnage de la quercétine.

### 2.5.3. Dosage des tanins

La méthode de la réaction vanilline a été utilisée pour doser les tanins. Pour ce faire, un milieu réactionnel de 6 ml a été préparé en mélangeant 1 ml d'échantillon, 2,5 ml de réactif A (solution de vanilline à 1% p/v dans le méthanol) et 2,5 ml de réactif B (solution d'HCl ou d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 9N dans l'éthanol), selon les travaux de Price *et al.* (1978). La réaction a eu lieu à une température de 30°C pendant 15 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 500 nm (A500).

Les résultats obtenus ont été exprimés en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait sec, en utilisant une courbe d'étalonnage d'acide tannique.

### 2.6. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) en Réflexion Totale Atténuée (ATR) des Extraits de l'arbousier Avant et Après encapsulation

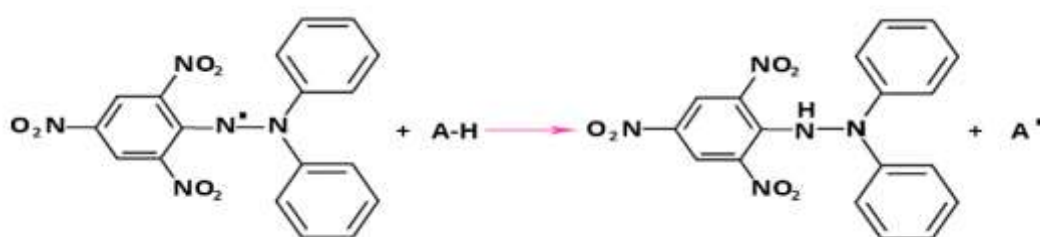
L'objectif de cette étude, visant à analyser les variations spectrales des extraits phénoliques non encapsulés, des levures, ainsi que des extraits encapsulés dans des cellules de levure intactes et plasmolysées, a été atteint. Un spectromètre FTIR Cary-600 équipé d'un accessoire ATR (MIRacle™ ATR à une réflexion simple) et d'un élément de réflexion interne en diamant (IRE) de PIKE Technologies a été utilisé pour enregistrer les spectres. Les spectres ont été enregistrés en moyennant 32 scans dans la plage de 4000 à 400 cm<sup>-1</sup>, avec une résolution de 4 cm<sup>-1</sup>. Les spectres de fond ont été soustraits à l'aide du logiciel Resolution Pro version 5.0 (Agilent Technologies) pour chaque échantillon. Ensuite, les spectres ont été lissés en utilisant l'algorithme de Savitsky-Golay avec une fenêtre de 11 points. Enfin, une correction de base a été appliquée aux spectres en utilisant le filtre de Savitzky-Golay : deuxième dérivée avec une fenêtre de six points, suivie d'une normalisation vectorielle (Sala *et al.*, 2020). Grâce à ces étapes d'analyse, des informations sur la composition chimique et les interactions moléculaires des échantillons étudiés ont été obtenues en utilisant la spectroscopie FTIR comme technique d'investigation.

### 2.7. Evaluation de l'activité antioxydante

Les activités antioxydantes des extraits d'arbousier avant et après encapsulation ont été évaluées par deux méthodes DPPH et ABTS.

### 2.7.1. Méthode DPPH

Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un outil couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante en milieu organique, (Blois ,1958). Il repose sur la réduction d'une solution alcoolique du radical DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), ce qui entraîne la formation d'une forme non radicalaire, DPPH-H(figure 16). Les radicaux DPPH• présents dans la solution confèrent à celle-ci une couleur pourpre foncé et engendrent une forte absorption à 517 nm. Toutefois, l'introduction d'un agent antioxydant entraîne une décoloration progressive de la solution au cours de la réaction, ce qui modifie la colorimétrie de la solution (Xie et Schaich, 2014).



**Figure 16:** Mécanisme d'action du DPPH (Xie et Schaich, 2014).

Le test de l'activité antioxydante par DPPH comporte plusieurs étapes. Tout d'abord, il faut préparer une solution de DPPH en dissolvant 3,94 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol pour obtenir une concentration de 0,01 mm. Ensuite, des échantillons à tester sont préparés en les dissolvant dans de l'éthanol. Les échantillons sont ensuite ajoutés à la solution de DPPH dans une série de tubes à essai contenant des concentrations croissantes d'échantillon à tester (de 0 à 1 mg/ml). Les tubes sont incubés pendant 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière. Après l'incubation, l'absorbance de chaque tube est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Le pourcentage d'inhibition de DPPH est ensuite calculé en utilisant la formule suivante :

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

Une courbe dose-réponse est générée afin d'illustrer graphiquement la relation entre le pourcentage d'inhibition de DPPH et la concentration de l'échantillon. Cette courbe permet de déterminer l'IC50, qui correspond à la concentration d'échantillon requise pour réduire de moitié la quantité initiale de DPPH. Le calcul de l'IC50 est réalisé en interpolant les données obtenues à partir de la courbe dose-réponse.

### 2.7.2. Méthode ABTS

Cette méthode repose sur l'aptitude de certains composés à capturer le radical-cation ABTS●+ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique), qui a une teinte bleu-vert à l'état initial. Ce radical cationique est produit par l'oxydation de l'ABTS, qui n'a pas de couleur initialement.

La réaction se déroule en deux étapes : dans un premier temps, le radical ABTS●+ est généré en retirant un électron d'un atome d'azote de l'ABTS grâce à la présence de persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$  dans le milieu réactionnel. Dans un deuxième temps, en présence d'un antioxydant donneur de  $H^+$ , le radical d'azote correspondant capte un  $H^+$ , formant ainsi l'ABTSH+ et entraînant la décoloration de la solution (Re *et al.*, 1999).

Pour préparer la solution mère d'ABTS, on mélange 5 ml d'eau et 19,2 mg d'ABTS avec 3,3 mg de  $K_2S_2O_8$ , puis on laisse le mélange réactionnel incuber à l'obscurité pendant 16 heures à température ambiante. La solution fille de travail d'ABTS + est obtenue en diluant la solution mère d'ABTS avec de l'eau jusqu'à obtenir une absorbance d'environ (0,7) à 734 nm (Re *et al.*, 1999).

Dans chaque tube des prises de 1ml des différentes concentrations (0-1mg/ml) des extraits de la plante encapsulé et nonencapsulé et 160  $\mu$ l de la solution d'ABTS. Ont été incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. La lecture des absorbances est effectuée à 734nm.

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 tracés en fonction des concentrations d'extrait pour déterminer l'index IC50.

### 2.8. Analyse statistique

Le calcul des moyennes plus ou moins l'écart type des trois répétitions ainsi que les représentations graphiques ont été effectués par Excel 2013 (Microsoft Excel Version 3. 2013, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA). Un test ANOVA à un seul facteur suivi par test Post hoc – Tukey a été réalisé à l'aide du logiciel Minitab® LLC (MinitabStatistical Software for windowsreleased 2019, version 19.1.1.0, Minitab, LLC sis 1829 Pine Hall Road, State College, PA, USA) pour comparer moyennes obtenues. Les lettres en exposant ; a, b, c, d indiquent une différence significative au seuil de signification 0,05. Les spectres de l'analyse FTIR ont été tracés

## Matériel et méthodes

---

par OriginLab 9.6(OriginLab Corporation. (2019). OriginPro 2019 SR1 (version 9.61.0000). Northampton, MA, USA).

## **Résultats et discussion**

## Résultats et discussion

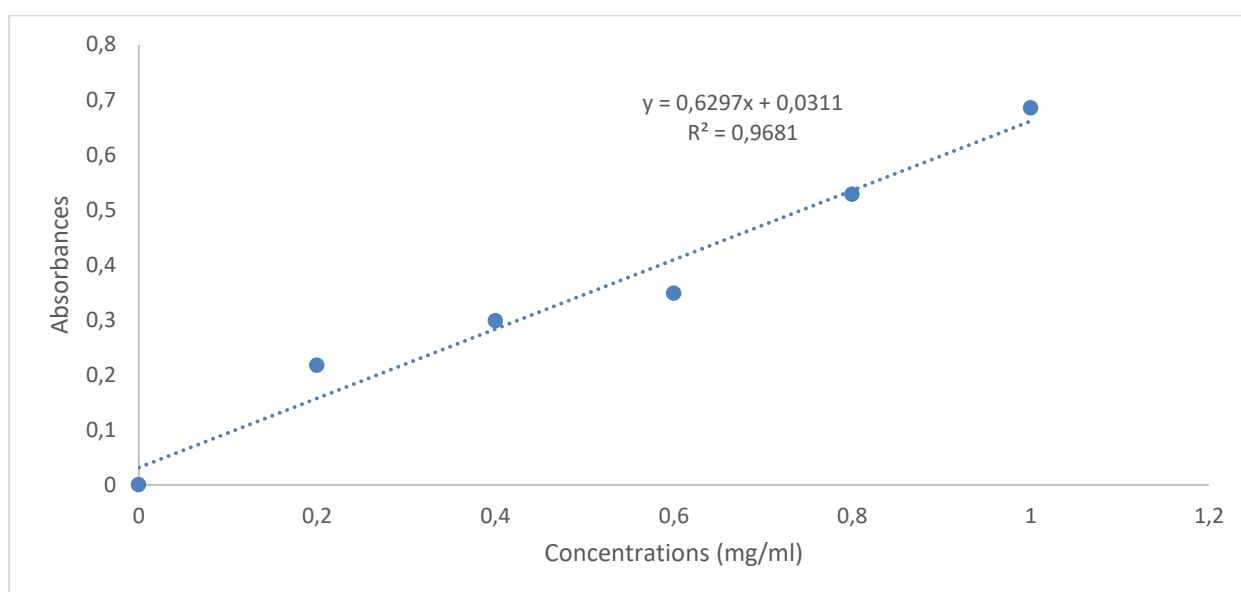
### 1. Teneurs en composés phénoliques de fruits de l'arbousier

#### 1.1. Courbes d'étalonnage

Les quantités de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins ont été déterminées en utilisant des courbes d'étalonnage de l'acide gallique, de la quercétine et de l'acide tannique, respectivement. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) pour les polyphénols totaux, en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES) pour les flavonoïdes, et en milligrammes équivalents d'acide tannique par gramme d'extrait sec (mg EAT/g ES) pour les tanins.

#### 1.2. Teneurs en polyphénols totaux

Les quantités de polyphénols correspondantes à chaque échantillon ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage (figure 17) en utilisant l'équation suivante :  $Y=0.6297X + 0.0311$



**Figure 17:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux obtenus sont présentés dans le tableau 3 :  
Tableau 3: Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g ES).

**Tableau 3: Teneur en polyphénols totaux.**

	Extrait non encapsulé	Extrait encapsulé dans des levures intactes	Extrait encapsulé dans des levures plasmolysées
<i>Teneur en polyphénols mg EAG/g ES</i>	6,808±0.49 <sup>a</sup>	1,469±0.24 <sup>c</sup>	1,901±0.54 <sup>b</sup>

## Résultats et discussion

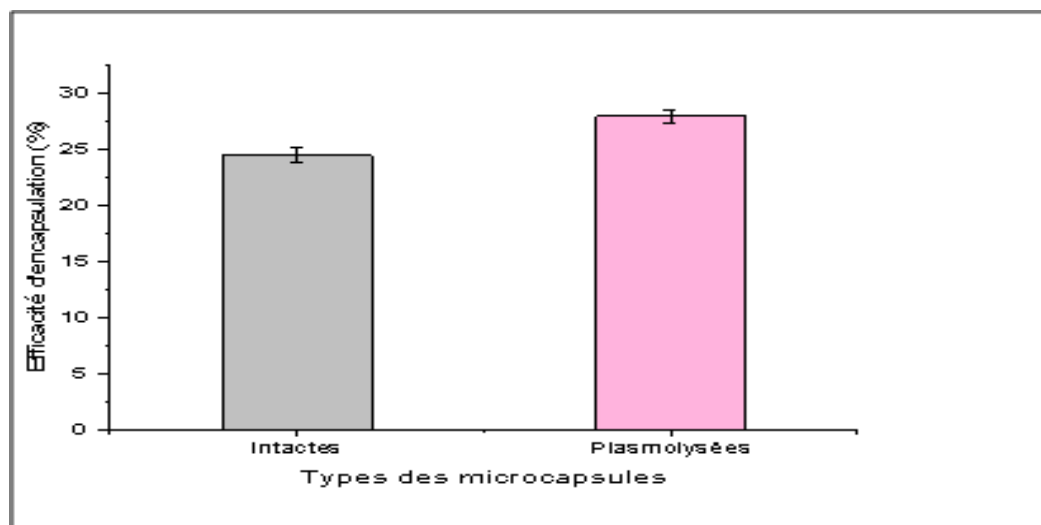
L'analyse de variance (ANOVA) révèle des différences significatives dans les teneurs en polyphénols totaux entre les trois échantillons étudiés : l'extrait non encapsulé, l'extrait encapsulé dans des levures intactes et l'extrait encapsulé dans des levures plasmolysées. Cette différence significative est indiquée par une valeur de p inférieure à 0,05.

Avant l'encapsulation, la teneur en polyphénols était de  $6,80 \pm 0,49$  (mg EAG/g ES). Cependant, après l'encapsulation, on observe une diminution significative de la teneur en polyphénols dans les deux types d'encapsulation. L'extrait encapsulé dans des levures intactes présente une teneur en polyphénols de seulement  $1,46 \pm 0,24$  (mg EAG/g ES), tandis que l'extrait encapsulé dans des levures plasmolysées affiche une teneur de  $1,90 \pm 0,54$  (mg EAG/gES).

Ces résultats indiquent clairement une réduction notable de la concentration de polyphénols dans les deux types d'encapsulation par rapport à l'extrait initial non encapsulé. Cependant, il est important de noter que la réduction est plus marquée dans l'extrait encapsulé dans des levures intactes, où la teneur en polyphénols est considérablement plus basse que dans l'extrait encapsulé dans des levures plasmolysées.

En ce qui concerne la comparaison entre les deux types d'encapsulation, les résultats montrent que la rétention des polyphénols totaux est meilleure lorsque des levures plasmolysées sont utilisées. Cela suggère que les levures plasmolysées offrent une meilleure protection aux polyphénols, ce qui permet de préserver leur concentration plus efficacement par rapport aux levures intactes.

Les résultats obtenus ont été confirmés en calculant l'efficacité d'encapsulation. Les données correspondantes sont présentées dans la figure 18.



**Figure 18:** Efficacité d'encapsulation des polyphénols totaux.

## Résultats et discussion

Une différence significative ( $p < 0,05$ ) a été observée entre les microcapsules contenant les levures intactes et celles contenant les levures plasmolysées. Lors de l'évaluation de l'efficacité d'encapsulation de l'extrait dans les levures intactes, il a été constaté que seulement  $21,47 \pm 0,56\%$  des polyphénols présents dans l'extrait initial ont été encapsulés avec succès. Cette faible efficacité d'encapsulation suggère une perte substantielle de polyphénols lors du processus d'encapsulation des levures intactes. En revanche, l'efficacité d'encapsulation de l'extrait encapsulé après plasmolyse a montré des performances améliorées, atteignant  $27,94 \pm 0,57\%$ . Ces résultats indiquent qu'une proportion plus élevée de polyphénols de l'extrait initial a été encapsulée avec succès après le traitement de plasmolyse.

### 1.3. Teneur en flavonoïdes

Les quantités de flavonoïdes correspondantes à chaque échantillon ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage (figure 19) en utilisant l'équation suivante :

$$Y = 0.5901x + 0.0704.$$

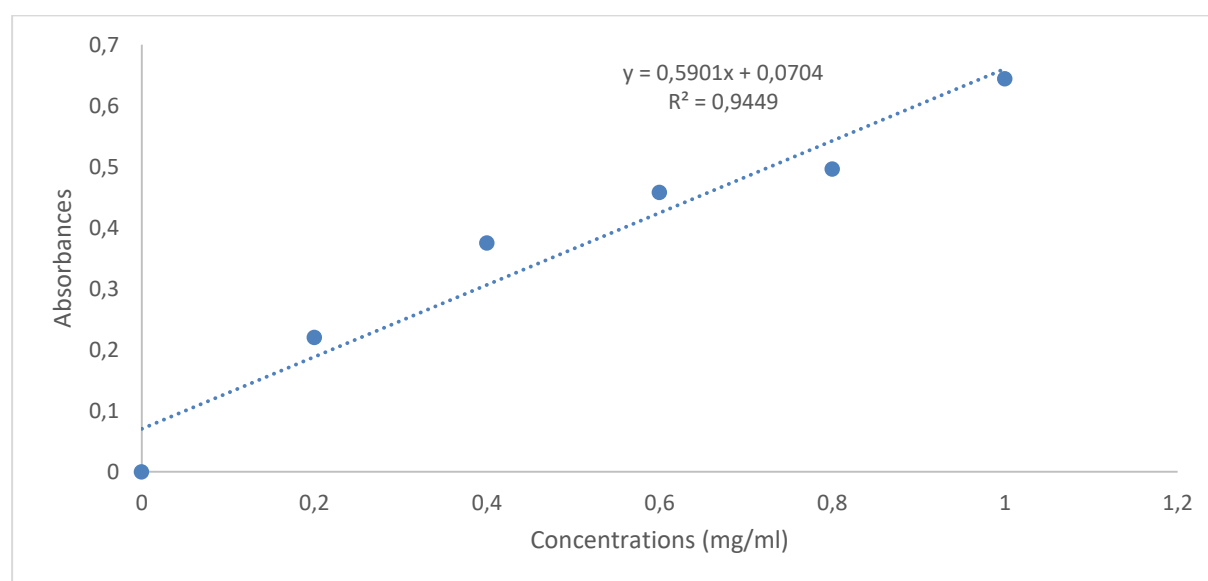


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les teneurs en flavonoïdes obtenus sont enregistrés dans le tableau 4 :

Tableau 4: Teneurs en flavonoïdes (mgEQ/g ES).

	Extrait non encapsulé	Extrait encapsulé dans des levures intactes	Extrait encapsulé dans des levures plasmolysées
Teneurs en flavonoïdes (mg EQ/g ES)	$4,7034 \pm 0,23^a$	$2,9873 \pm 0,01^b$	$2,0297 \pm 0,12^c$

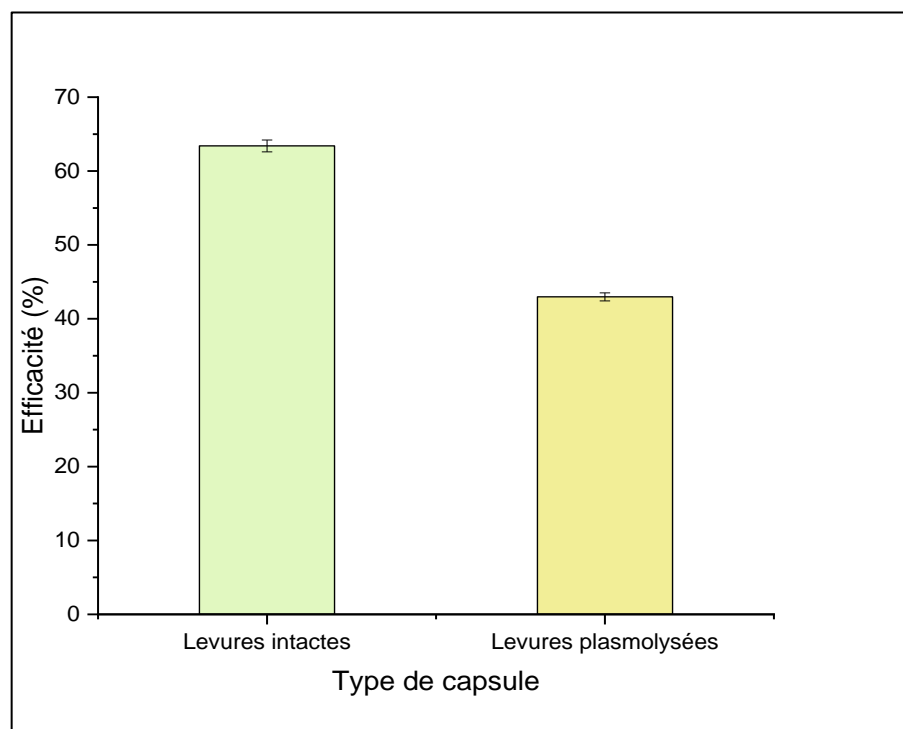
## Résultats et discussion

L'analyse ANOVA a révélé une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois échantillons, indiquant une variation notable de la concentration de flavonoïdes. L'extrait non encapsulé présentait une concentration élevée de flavonoïdes, mesurée à  $4,7034 \pm 0,23$  mg EQ/gES, ce qui témoigne d'une présence significative de ces composés.

Suite à l'encapsulation, la concentration de flavonoïdes dans l'extrait encapsulé dans des cellules de levures intactes a considérablement diminué pour atteindre  $2,9873 \pm 0,01$  mg EQ/gES. Cette valeur indique une réduction significative par rapport à la concentration initiale de l'extrait non encapsulé ( $4,7034 \pm 0,23$  mg EQ/g ES).

De plus, la plasmolyse des levures a engendré une diminution significative de la concentration de flavonoïdes, qui s'est établie à  $2,0297 \pm 0,012$  mg EQ/g ES. Cette valeur est inférieure à la concentration initiale de l'extrait non encapsulé, démontrant ainsi une réduction notable de la concentration de flavonoïdes après le processus de plasmolyse des levures. Par conséquent, la plasmolyse a entraîné une diminution plus prononcée de la concentration de flavonoïdes par rapport à l'extrait encapsulé dans des cellules intactes.

L'efficacité d'encapsulation des flavonoïdes est montrée dans la figure 20.



**Figure 20:** Efficacité d'encapsulation des flavonoïdes.

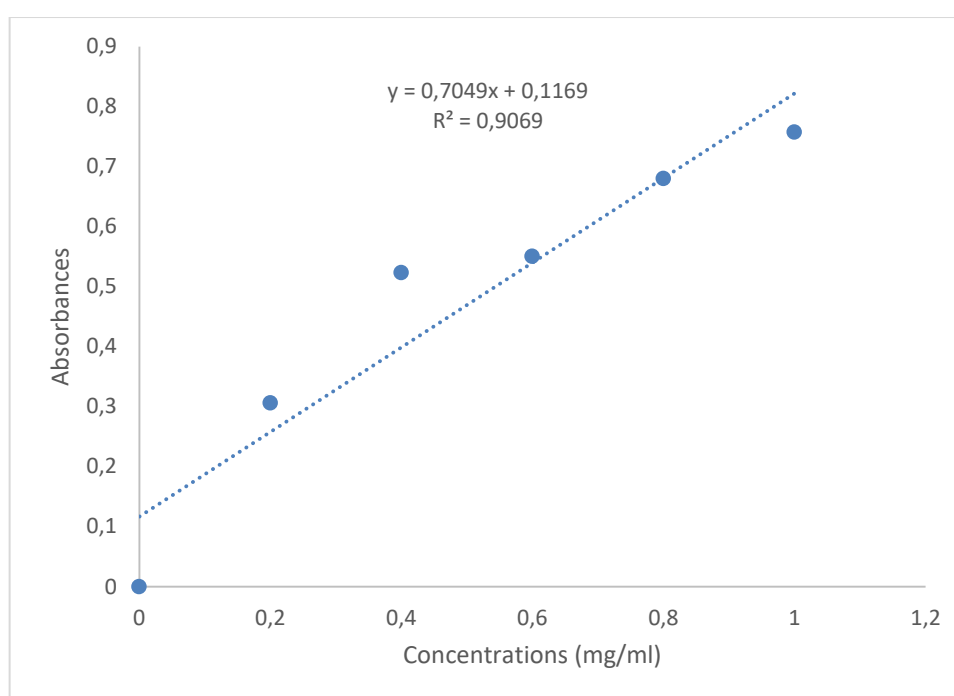
Lors de l'encapsulation dans des levures plasmolysées, l'efficacité d'encapsulation a été mesurée à  $42,97 \pm 0,54\%$ , ce qui signifie que seulement  $42,97 \pm 0,54\%$  des flavonoïdes présents dans l'extrait initial ont été encapsulés avec succès après la plasmolyse des levures. En revanche, dans le

## Résultats et discussion

cas de l'encapsulation dans des levures intactes, l'efficacité d'encapsulation s'est élevée à  $63,40 \pm 0,81\%$ . Cette valeur indique que  $63,40 \pm 0,81\%$  des flavonoïdes de l'extrait initial ont été encapsulés avec succès sans subir la plasmolyse des levures. Il est important de noter que cette valeur est supérieure, suggérant ainsi qu'une plus grande proportion de flavonoïdes de l'extrait initial a été préservée lors de l'encapsulation dans des levures intactes par rapport à l'encapsulation dans des levures plasmolysées.

### 1.4. Teneur en tanins

La courbe d'étalonnage des tanins, établie en fonction des variations d'absorbance de l'acide tannique à différentes concentrations (figure 21), revêt une importance capitale dans cette étude. L'équation obtenue,  $Y=0,7049x+0,1169$ .



**Figure 21: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.**

Les teneurs en tanins obtenues sont montrées dans le tableau 5.

**Tableau 5: Teneurs en tanins (mg EAT/g d'extrait sec).**

	Extrait non encapsulé	Extrait encapsulé dans des levures intactes	Extrait encapsulé Dans des levures plasmolysées
Teneurs en tanins			
mg EAT/g ES	$0,138 \pm 0,25^a$	$0,106 \pm 0,15^c$	$0,114 \pm 0,57^b$

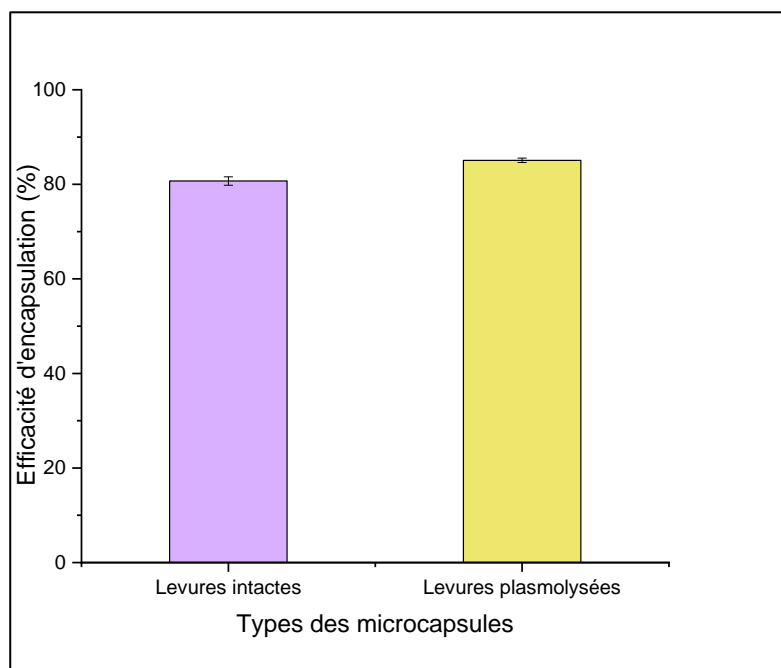
## Résultats et discussion

Il y a une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les extraits avant et après l'encapsulation. Avant l'encapsulation, la teneur en tanins de l'extrait était de  $0,138 \pm 0,25$  mg EAT/g ES. Après l'encapsulation, nous avons mesuré la teneur en tanins dans les levures intactes et les levures plasmolysées, qui étaient respectivement de  $0,106 \pm 0,15$  mg EAT/g ES et  $0,114 \pm 0,57$  mg EAT/g ES.

On observe une diminution de la teneur en tanins après l'encapsulation, tant dans les levures intactes que dans les levures plasmolysées. Cela suggère que l'encapsulation a un effet négatif sur la quantité de tanins présents, en les réduisant.

En ce qui concerne l'encapsulation dans les levures plasmolysées et les levures intactes, la teneur en tanins est légèrement plus élevée dans les levures plasmolysées par rapport aux levures intactes.

En termes d'efficacité d'encapsulation, nous avons mesuré une efficacité de  $80,702 \pm 0,85$  % dans les levures intactes et de  $85,088 \pm 0,24$  % dans les levures plasmolysées. Ces valeurs indiquent que l'encapsulation est plus efficace dans les levures plasmolysées, suggérant que la plasmolyse peut favoriser la capture et la rétention des tanins dans les levures (figure 22).



**Figure 22:** Efficacité d'encapsulation des tanins.

## Résultats et discussion

---

Notre étude a démontré une meilleure efficacité d'encapsulation des polyphénols totaux et des tanins dans les levures plasmolysées par rapport aux cellules intactes.

Ces résultats concordent avec l'étude réalisée par Shi *et al.* 2007 qui ont également observé une augmentation significative de l'efficacité d'encapsulation grâce à l'utilisation de la plasmolyse. Ils ont constaté une augmentation notable de l'efficacité d'encapsulation de l'acide chlorogénique hydrosoluble, passant de 6,2% dans les levures intactes à 12,6% dans les levures plasmolysées. Ces résultats suggèrent que l'utilisation de la plasmolyse conduit à une amélioration notable de l'efficacité d'encapsulation par rapport aux échantillons encapsulés dans des cellules intactes.

Des études antérieures soutiennent également l'idée que la plasmolyse peut être une stratégie prometteuse pour améliorer l'efficacité d'encapsulation des polyphénols et d'autres composés bioactifs. Par exemple, Kavosi *et al.* (2018) ont rapporté que la plasmolyse permettait d'obtenir des valeurs d'efficacité d'encapsulation plus élevées. De plus, Dadkhodazade *et al.* (2018) ont également signalé que l'utilisation de la plasmolyse avant la procédure d'encapsulation conduisait à une amélioration de l'efficacité d'encapsulation.

Des études comparatives ont renforcé ces résultats en démontrant que l'encapsulation dans des cellules plasmolysées est plus efficace que dans des cellules intactes, même avec différentes substances actives telles que l'huile de graines de pourpier, le cholécalciférol, la berbérine (Paramera *et al.*, 2011) et la curcumine (Ruphuy *et al.*, 2020).

La plasmolyse fragilise la membrane cellulaire, facilitant ainsi la diffusion des molécules. Cependant, certains composés hydrosolubles rencontrent des difficultés pour traverser les membranes plasmiques en raison de leur faible solubilité, qui est attribuable à leur hydrophilicité élevée ou à leur caractère ionique. Pour pallier cette limitation, une méthode couramment utilisée consiste à soumettre les cellules à une plasmolyse, un traitement visant à perturber ou affaiblir les membranes cellulaires. Cette approche permet de faciliter la diffusion des composés hydrosolubles à l'intérieur des cellules. Des études ont démontré que la plasmolyse induit une augmentation de la fluidité membranaire chez les levures, ce qui influe sur l'efficacité d'encapsulation des molécules hydrophobes (Paramera et Konteles, 2011). Il est important de noter que les traitements plasmolytiques affectent non seulement l'intégrité de la membrane plasmique, mais aussi celle de pratiquement toutes les organites cytoplasmiques (Salari *et al.* , 2013).

Les tanins sont des composés phénoliques de haut poids moléculaire connus pour leur capacité à former des complexes et à interagir avec les protéines. La plasmolyse peut favoriser la formation de structures plus compactes; lorsque les cellules se déshydratent, les molécules de tanin

## Résultats et discussion

peuvent se rapprocher les unes des autres et former des agrégats plus denses. Cette compaction des tanins peut faciliter leur encapsulation efficace (Orlean , 2012).

En revanche, concernant les flavonoïdes, nous avons constaté une diminution de l'efficacité d'encapsulation dans les levures plasmolysées par rapport à l'extrait encapsulé dans les cellules intactes. Ces résultats diffèrent de ceux de l'étude menée par Shi *et al.* (2007), qui ont observé une augmentation de l'efficacité d'encapsulation grâce à la plasmolyse. Cette diminution de l'efficacité d'encapsulation suggère un effet négatif de la plasmolyse sur les flavonoïdes.

La baisse de l'efficacité d'encapsulation des flavonoïdes dans les levures plasmolysées par rapport aux cellules intactes peut être attribuée à la composition chimique des flavonoïdes. En effet, ces composés sont souvent liés à des glycosides qui sont plus solubles et qui interagissent avec la membrane cellulaire de la levure, améliorant ainsi le processus d'encapsulation (Gullon *et al.*, 2017). Ces résultats concordent avec ceux de Paramera *et al.* (2011), qui suggèrent que la plasmolyse n'a pas d'impact sur la quantité finale de flavonoïdes encapsulés dans les cellules de levure. Cela indique que les flavonoïdes sont capturés à l'intérieur des cellules de levure grâce à des interactions et des liaisons spécifiques avec la membrane et la paroi cellulaire.

### 2. Analyse FTIR

Les résultats de FTIR sont montrés dans la figure 23 :

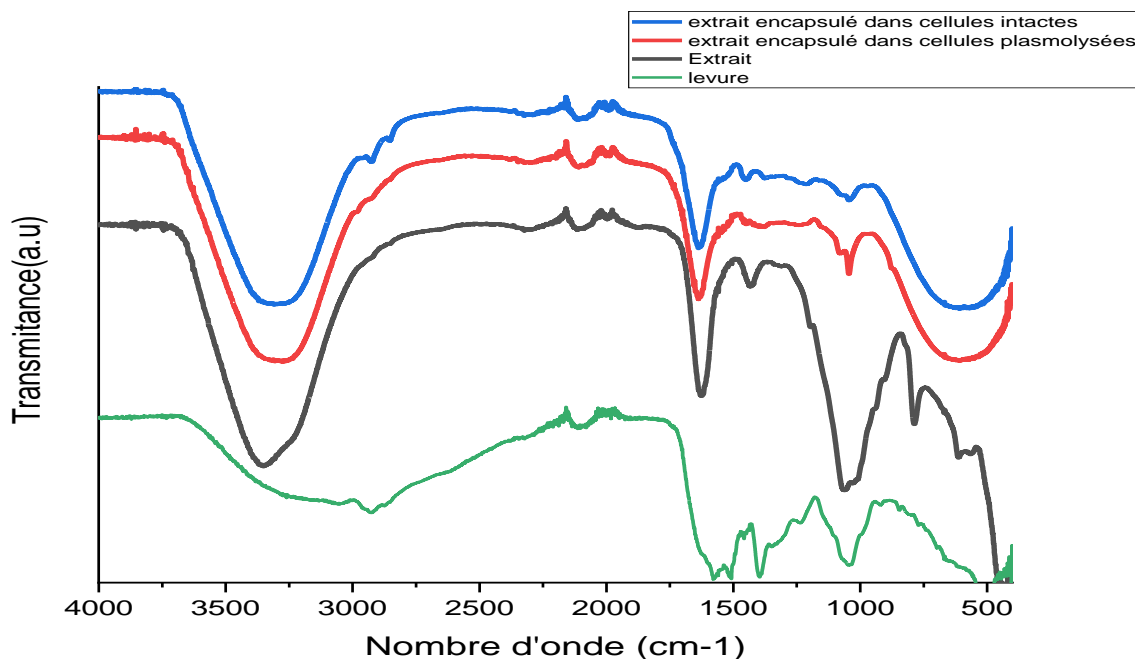


Figure 23: Analyse FTIR.

## Résultats et discussion

---

Les spectres FTIR de *S. cerevisiae* révélait des régions spectrales bien définies (Figure 23) qui correspondaient à des vibrations spécifiques de constituants chimiques présents dans la cellule de levure. Comme l'ont déjà signalé Szeghalmi *et al.* (2007) pour les champignons, il était impossible de différencier le cytoplasme (qui contient divers organites tels que le noyau, les mitochondries et les vacuoles de stockage) des composants de la paroi, y compris les mannoprotéines et les sucres (chitine, glucanes...) (Saulou *et al.*, 2010). Les principales caractéristiques observées (Figure 23) étaient les vibrations caractéristiques des protéines (amide I à 1 600  $\text{cm}^{-1}$  et amide II dans la région de 1 480 à 1 500  $\text{cm}^{-1}$ ), des acides nucléiques (de 1 180 à 1 300  $\text{cm}^{-1}$ ) et des glucides (de 1 080 à 1 200  $\text{cm}^{-1}$ ). La plage de 2 800 à 3 000 correspondait aux acides gras et aux lipides (vibrations d'étirement des liaisons C-H, incluant les groupes fonctionnels CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub>) (Cheeseman *et al.*, 2021). Une bande intense entre 3 000 et 3 500  $\text{cm}^{-1}$ , correspondant à la liaison NH des protéines, a été détectée (Saulou *et al.*, 2010).

Les bandes d'absorption identifiées dans l'extrait sont :  
Bande OH : La bande d'étirement de l'hydroxyle (OH) se situe généralement entre 3200 et 3600  $\text{cm}^{-1}$ . Elle est associée aux groupes phénoliques et aux groupes hydroxyles présents dans les polyphénols.

Bande C=O : La bande de vibration de la liaison carbonyle (C=O) se trouve généralement entre 1650 et 1750  $\text{cm}^{-1}$ . Elle est souvent observée dans les polyphénols contenant des groupes cétones ou des groupes aldéhydes.

Bande C=C : La bande de vibration de la double liaison carbone-carbone (C=C) se situe généralement entre 1500 et 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Elle est caractéristique des polyphénols contenant des cycles aromatiques.

Bande C-O : La bande de vibration de la liaison carbone-oxygène (C-O) se trouve généralement entre 1000 et 1300  $\text{cm}^{-1}$ . Elle est souvent présente dans les polyphénols contenant des groupes alcools, des esters ou des éthers.

Le spectre IR des microcapsules de levure est présenté dans la figure .....et comprend de nombreux pics d'absorption caractéristiques d'extrait mais leur intensité d'absorption et leur fréquence ont changé. Le spectre de ces microcapsules est clairement différent du mélange physique). Par exemple, les pics d'absorption à entre 500 et 900 $\text{cm}^{-1}$  des extraits ont disparu, et l'apparition d'une nouvelle liaison sur le spectre des polyphénols encapsulés, ce qui implique la présence de liaisons hydrogène extrait -cellule et d'interactions hydrophobes, respectivement (Paramera , 2011).

## Résultats et discussion

Les larges bandes d'absorption à 3342  $\text{cm}^{-1}$  peuvent être le chevauchement des bandes d'absorption des vibrations valentes NH des protéines des cellules de levure et de OH des polyphénols. Selon Larionova *et al.* (1999) et Ci *et al.* (2002), les bandes d'absorption à 1537 et 1657  $\text{cm}^{-1}$  des microcapsules peuvent être attribuées aux bandes amide II et I des protéines des cellules de levure chevauchées par les vibrations d'étirement conjuguées C=C et les vibrations squelettiques de l'anneau aromatique des polyphénols.

Ainsi, en tenant compte des interactions possibles entre les polyphénols et les protéines et les polysaccharides, des changements de forme et d'intensité entre les microcapsules et les cellules de levure, ainsi que la disparition de l'absorbance des polyphénols, indiquent que les extraits phénoliques ont été encapsulés dans les cellules de levure. La bande C-O : La bande de vibration de la liaison carbone-oxygène (C-O) se trouve généralement entre 1000 et 1300  $\text{cm}^{-1}$  qui provient des glucides des levures ou C-O des polyphénols. Elle est souvent présente dans les polyphénols contenant des groupes alcools, des esters ou des éthers.

### 3. Effet de l'encapsulation sur l'activité antioxydante de l'arbousier

Les résultats de l'étude portant sur l'activité antioxydante basée sur la capacité de piégeage des radicaux DPPH et ABTS de l'extrait d'arbousier avant et après l'encapsulation sont présentés par les valeurs de l'IC50, qui représentent la concentration nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité antioxydante et sont rapportés dans le Tableau 6.

**Tableau 6: Valeurs d'IC50 (mg/ml).**

échantillon/IC50	DPPH (mg/ml)	ABTS (mg/ml)
Extrait	0,14±0,2 <sup>b</sup>	0,36±0,55 <sup>a</sup>
Extrait encapsulé dans des levures intactes	0,13±0,94 <sup>c</sup>	0,106±0,26 <sup>b</sup>
Extrait encapsulé dans des levures plasmolysées	0,16±0,87 <sup>a</sup>	0,108±0,85 <sup>b</sup>

Les fruits de l'arbousier se distinguent par leur remarquable activité antioxydante, grâce à leur richesse en antioxydants précieux. En effet, ils renferment une variété de composés phénoliques tels que les anthocyanes, les flavonoïdes, les dérivés d'acide gallique et les tanins, ainsi que des vitamines C et E, et des caroténoïdes (Pallauf *et al.*, 2008 ; Tavares *et al.*, 2010).

D'après Morgadoa *et al.* (2018), de nombreuses études ont montré une puissante activité antioxydante d'*A. unedo* L., à savoir des feuilles et des fruits. Ces derniers possèdent un effet de

## Résultats et discussion

---

piégeage élevé contre le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et un effet puissant dans l'élimination des radicaux superoxydes.

Pour DPPH, Avant l'encapsulation, l'extrait a présenté une activité antioxydante avec un IC50 de  $0,14 \pm 0,2$  mg/ml. Cela indique que le produit a une forte capacité à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs. En outre, il est mentionné dans plusieurs travaux que le groupe hydroxyle (OH) dans le cycle aromatique des antioxydants phénoliques est lié à l'activité antioxydante des extraits DPPH. Cependant, l'activité significative de piégeage des radicaux de différents extraits peut dépendre de la présence d'un nombre plus élevé de groupes hydroxyle dans le noyau phénolique (Olajuyigbe et Afolayan, 2011).

Après l'encapsulation, les échantillons encapsulés dans des levures intactes ont présenté une légère amélioration de l'activité antioxydante avec un IC50 de  $0,13 \pm 0,94$  mg/ml, tandis que les échantillons encapsulés dans levures plasmolysées ont montré une légère diminution de l'activité antioxydante, avec un IC50 de  $0,16 \pm 0,87$  mg/ml. Cela est peut-être dû à la teneur en flavonoïdes qui révélé un taux d'encapsulation plus élevé dans des cellules intactes que les cellules plasmolysées. Parmi tous les métabolites secondaires présents dans les plantes, ces molécules se distinguent par leur potentiel antioxydant exceptionnellement élevé, ce qui se traduit par des effets bénéfiques sur divers processus biologiques. (Doukani *et al.*, 2015 ; Olajuyigbe et Afolayan, 2011). Ils exercent leur capacité antioxydante par le biais de divers mécanismes d'action.

Tout d'abord, ils se lient aux métaux de transition qui catalysent la peroxydation lipidique, bloquant ainsi la propagation des réactions d'oxydation. De plus, ils inhibent l'attaque des oxydants sur les cibles cellulaires en donnant des électrons et en piégeant les radicaux libres. Les flavonoïdes renforcent également la capacité antioxydante cellulaire en stimulant la production d'antioxydants endogènes. Ils agissent comme d'excellents piégeurs de radicaux libres en donnant rapidement un atome d'hydrogène aux radicaux libres. En général, l'activité antiradicalaire des flavonoïdes dépend de la structure moléculaire et de la substitution des groupes hydroxyles, ce qui favorise la stabilisation des radicaux phénoxydes résultants par délocalisation (Seifu *et al.*, 2012).

En comparant les valeurs de l'IC50, il est observé que l'encapsulation des échantillons intacts et plasmolysés a conduit à une activité antioxydante légèrement inférieure à celle de l'extrait non encapsulé.

Pour ABTS, Les valeurs IC50 indiquent la concentration nécessaire pour inhiber 50% de l'activité du radical libre ABTS.

## Résultats et discussion

---

Comparativement à l'extrait non encapsulé qui présente une valeur de  $IC_{50} = 0.36$ , les extraits encapsulés, qu'ils soient dans des levures intacts ou plasmolysés, présentent des valeurs  $IC_{50}$  plus faibles qui sont identiques ( $IC_{50}=0.10$ ). Cela révèle que l'encapsulation a amélioré l'activité antioxydante de manière significative. Ces résultats suggèrent que l'encapsulation, qu'elle soit intacte ou plasmolysée, a amélioré l'activité antioxydante des extraits.

Cela est peut-être dû à l'activité de la levure ou de la synergie créée entre les polyphénols et les capsules de levures. La levure est riche en antioxydants tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les caroténoïdes et les vitamines (Maeta *et al.* , 2007 ; Datta *et al.* ,2017). Des études ont démontré que la levure possède une activité antioxydante. Elle inhibe la peroxydation lipidique, capture les radicaux libres comme le DPPH et réduit les espèces réactives de l'oxygène telles que le peroxyde d'hydrogène et le radical superoxyde (Moghaddam *et al.* ,2017). La levure utilise plusieurs mécanismes pour exercer son activité antioxydante, notamment des enzymes telles que la SOD, la catalase et la glutathion peroxydase, qui neutralisent les radicaux libres par des réactions de détoxification (Jensen *et al.* , 2004).

Nos résultats mettent en évidence une disparité entre les deux méthodes utilisées pour quantifier l'activité antioxydante. Les valeurs d' $IC_{50}$  révèlent que l'activité antioxydante mesurée par le test ABTS est plus élevée que celle mesurée par le test DPPH. Cette disparité est attribuée à la différence de solubilité entre ces deux radicaux. En effet, l'ABTS<sup>+</sup> est soluble à la fois dans des milieux organiques et aqueux, tandis que le DPPH est uniquement soluble dans des milieux organiques, plus spécifiquement alcooliques, ce qui lui permet d'évaluer l'activité antioxydante des composés solubles uniquement dans les milieux organiques. Ainsi, le test ABTS<sup>+</sup> permet d'étudier à la fois les agents hydrophiles et lipophiles (Floegel *et al.*,2011).

# **Conclusion**

## Conclusion

---

L'encapsulation des polyphénols à l'intérieur de cellules de levure représente une approche prometteuse avec un large éventail d'applications potentielles dans divers domaines, notamment dans l'industrie agroalimentaire. Cette technique offre la possibilité d'utiliser ces composés comme des antioxydants naturels, évitant ainsi le recours à des antioxydants synthétiques.

L'encapsulation des polyphénols au sein des cellules de levure permet de préserver leur intégrité en les protégeant contre l'oxydation et la dégradation, ce qui peut améliorer leur efficacité et prolonger leur durée de conservation.

Notre étude a été réalisée pour évaluer l'efficacité d'encapsulation des polyphénols de l'arbousier (*Arbutus unedo* L.) dans des cellules de levure, en utilisant des levures intactes et des levures plasmolysées. Les résultats ont montré une différence significative entre les deux types de levures en termes d'efficacité d'encapsulation.

L'encapsulation dans les levures intactes a montré une faible efficacité avec une perte substantielle de polyphénols, tandis que l'encapsulation après plasmolyse a amélioré l'efficacité. Cette différence suggère que la plasmolyse peut favoriser la capture et la rétention des polyphénols dans les levures. De plus, l'encapsulation a entraîné une réduction de la concentration de flavonoïdes et de tannins. En revanche, une légère hausse de la teneur en tanins a été observée dans les levures plasmolysées par rapport aux levures intactes. Avant l'encapsulation, l'extrait d'arbousier a démontré une forte activité antioxydante, avec la capacité de neutraliser les radicaux libres. Pour la méthode DPPH, après l'encapsulation dans des levures intactes, l'activité antioxydante est améliorée, tandis que l'encapsulation dans des levures plasmolysées a légèrement réduit cette activité. Pour ce qui est du test ABTS, l'encapsulation a considérablement amélioré l'activité antioxydante des extraits, réduisant les valeurs de l'IC50, indépendamment de l'encapsulation dans des levures intactes ou plasmolysées. Ces résultats suggèrent une amélioration significative de l'activité antioxydante grâce à l'encapsulation. Les résultats de cette étude ouvrent de nombreuses perspectives intéressantes pour la recherche future sur l'activité antioxydante des composés phénoliques de l'arbousier *Arbutus unedo* L, encapsulés dans des cellules de levure.

Pour améliorer les futures recherches, il est recommandé de poursuivre l'optimisation des techniques d'encapsulation des polyphénols dans des cellules de levure.

## Conclusion

---

Cela peut être réalisé en explorant différentes approches d'encapsulation, telles que l'utilisation de coacervation ou d'extrusion, ainsi que l'ajout de revêtements protecteurs supplémentaires pour améliorer la stabilité et la biodisponibilité des polyphénols encapsulés.

Il serait également bénéfique d'évaluer la biodisponibilité des polyphénols encapsulés en étudiant leur libération dans le tractus gastro-intestinal et leur absorption par l'organisme. Parallèlement, il est important de mener des études approfondies sur la stabilité des polyphénols encapsulés, en examinant les facteurs qui pourraient affecter leur intégrité et leur activité, tels que les conditions de stockage et les interactions avec d'autres composants alimentaires.

Pour élargir les perspectives d'application, il serait intéressant d'évaluer l'efficacité biologique des polyphénols encapsulés dans des modèles cellulaires et animaux pertinents. Cela permettrait de déterminer leur impact potentiel sur des processus biologiques spécifiques, tels que l'inflammation, le stress oxydatif ou les maladies chroniques.

En outre, il est crucial de mener des études approfondies sur la sécurité des polyphénols encapsulés, en évaluant leur toxicité potentielle, leur innocuité et leurs éventuels effets indésirables.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- Ait Youssef, M. (2006). *Plantes médicinales de Kabylie. Éditions Ibispress, Paris, France.*
- AitLhaj, Z., Bchitou, R., Gaboun, F., Abdelwahd, R., Benabdelouahab, T., Kabbour, M. R., ...&Bakhy, K. (2021). Moroccan strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits: Nutritional value and mineral composition. *Foods*, *10*(10), 2263.
- Alarcão-E-Silva, M. L. C. M. M., Leitão, A. E. B., Azinheira, H. G., &Leitão, M. C. A. (2001). The *Arbutus* Berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, *14*(1), 27-35
- Alexandre, A. M. R. C., Matias, A., Duarte, C. M. M., & Bronze, M. R. (2018). High-pressure CO<sub>2</sub> assisted extraction as a tool to increase phenolic content of strawberry-tree (*Arbutus unedo*) extracts. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, *27*, 73-80.
- ALI-DELILLE, L. (2013). *Les plantes médicinales d'Algérie. 3ème Édition, BERTI,239 p.*
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., &Trinajstić, N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croaticachemicaacta*, *76*(1), 55-61.
- Ayaz, F. A., Kucukislamoglu, M., &Reunanen, M. (2000). Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits. *Journal of food Composition and Analysis*, *13*(2), 171-177.
- Barros, L., Carvalho, A. M., Morais, J. S., & Ferreira, I. C. (2010). Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food chemistry*, *120*(1), 247-254.
- Barros, L., Heleno, S. A., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2009). Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculumvulgare* Mill. from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(10), 2458-2464.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A. D. R. J., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Oleaeuropaea* L. leaves. *Food chemistry*, *68*(4), 457-462.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*, 1199-1200.
- Bnouham, M., Merhfour, F. Z., Legssyer, A., Mekhfi, H., Maallem, S., &Ziyyat, A. (2007). Antihyperglycemic activity of *Arbutus unedo*, *Ammoidespusilla* and *Thymelaeahirsuta*. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, *62*(8), 630-632.
- Boročov-Neori, H., Judeinstein, S., Greenberg, A., Fuhrman, B., Attias, J., Volkova, N., ...&Aviram, M. (2008). Phenolic antioxidants and antiatherogenic effects of Marula (*Sclerocarryabirrea* Subsp. *caffra*) fruit juice in healthy humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(21), 9884-9891.

## Références bibliographiques

---

- BoroumandMoghaddam, A., Moniri, M., Azizi, S., Abdul Rahim, R., Bin Ariff, A., ZuhainisSaad, W., ...&Mohamad, R. (2017). Biosynthesis of ZnO nanoparticles by a new *Pichiakudriavzevii* yeast strain and evaluation of their antimicrobial and antioxidant activities. *Molecules*, 22(6), 872.
- Boubekri, C. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.) Lavoisier.
- Cai-Huang, C. H. (1997). The cultural practices for high and top quality production of Arbutus fruit trees. *China Fruits*, 3, 48.
- Cappadone, C., Mandrone, M., Chiocchio, I., Sanna, C., Malucelli, E., Bassi, V., ... & Poli, F. (2019). Antitumor potential and phytochemical profile of plants from sardinia (Italy), a hotspot for biodiversity in the mediterranean basin. *Plants*, 9(1), 26.
- Carcache-Blanco, E. J., Cuendet, M., Park, E. J., Su §, B. N., Rivero-Cruz, J. F., Farnsworth, N. R., ... & Douglas Kinghorn §, A. (2006). Potential cancer chemopreventive agents from *Arbutus unedo*. *Natural Product Research*, 20(04), 327-334.
- Caudullo, G., Welk, E., & San-Miguel-Ayanz, J. (2017). Chorological data for the main European woody species, V2, Mendeley Data [data set].
- Cegledi, E., Garofulić, I. E., Zorić, Z., Roje, M., & Dragović-Uzelac, V. (2022). Effect of Spray Drying Encapsulation on Nettle Leaf Extract Powder Properties, Polyphenols and Their Bioavailability. *Foods*, 11(18), 2852.
- CHAKER, I. B. (2021). *Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de Phlomis crinita* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- 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).
- Cheeseman, S., Shaw, Z. L., Vongsvivut, J., Crawford, R. J., Dupont, M. F., Boyce, K. J., ... & Truong, V. K. (2021). Analysis of pathogenic bacterial and yeast biofilms using the combination of synchrotron ATR-FTIR microspectroscopy and chemometric approaches. *Molecules*, 26(13), 3890.
- Chidambaram, M., & Krishnasamy, K. (2014). Modifications to the conventional nanoprecipitation technique: an approach to fabricate narrow sized polymeric nanoparticles. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(2), 205.
- Chorny, M., Fishbein, I., Danenberg, H. D., & Golomb, G. (2002). Lipophilic drug loaded nanospheres prepared by nanoprecipitation: effect of formulation variables on size, drug recovery and release kinetics. *Journal of controlled release*, 83(3), 389-400.
- Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2012). Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 148-173.

## Références bibliographiques

---

- D’Archivio, M., Filesi, C., Vari, R., Scazzocchio, B., & Masella, R. (2010). Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1321-1342.
- D’Archivio, M., Filesi, C., Vari, R., Scazzocchio, B., & Masella, R. (2010). Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1321-1342.
- Dadkhodazade, E., Mohammadi, A., Shojaee-Aliabadi, S., Mortazavian, A. M., Mirmoghtadaie, L., & Hosseini, S. M. (2018). Yeast cell microcapsules as a novel carrier for cholecalciferol encapsulation: development, characterization and release properties. *Food Biophysics*, 13, 404-411.
- Dangles, O. (2006). Propriétés chimiques des polyphénols. *Les polyphénols en agroalimentaire. Paris: Lavoisier*, 29-54.
- Datta, S., Timson, D. J., & Annapure, U. S. (2017). Antioxidant properties and global metabolite screening of the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(9), 3039-3049.
- De Leonardis, A., Angelico, R., Macciola, V., & Ceglie, A. (2013). Effects of polyphenol enzymatic-oxidation on the oxidative stability of virgin olive oil. *Food research international*, 54(2), 2001-2007.
- Deladino, L., Navarro, A. S., & Martino, M. N. (2010). Microstructure of minerals and yerba mate extract co-crystallized with sucrose. *Journal of food engineering*, 96(3), 410-415.
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Journal of microencapsulation*, 22(2), 179-192.
- Dewick PM. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*.. 3rd ed. United Kingdom: John Wiley and Sons Ltd.; 2009. p. 539. DOI: 10.1002/9780470742761
- Dhakal, S. P., & He, J. (2020). Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. *Food Research International*, 137, 109326.
- Dib, M. E. A., Allali, H., Bendiabdellah, A., Meliani, N., & Tabti, B. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(4), 381-385.
- Dima, Ş., Dima, C., & Iordăchescu, G. (2015). Encapsulation of functional lipophilic food and drug biocomponents. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 417-438.
- Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., & Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1908-1914.
- Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., ...& Nedović, V. (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7, 452-490.
- Doukani, K., & Tabak, S. (2015). Profil Physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.). *Nature & Technology*, (12), 51.

## Références bibliographiques

---

- Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., &Hacini, Z. (2014). Étude physico-chimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, 10, 37-49
- El Haouari, M., &Mekhfi, H. (2017). Anti-platelet aggregation effects of extracts from *Arbutus unedo* leaves. *Plant Science Today*, 4(2), 68-74.
- El Haouari, M., Assem, N., Changan, S., Kumar, M., Daştan, S. D., Rajkovic, J., ...&Sharifi-Rad, J. (2021). An insight into phytochemical, pharmacological, and nutritional properties of *Arbutus unedo* L. from Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Estévez, M., Güell, C., De Lamo-Castellví, S., &Ferrando, M. (2019). Encapsulation of grape seed phenolic-rich extract within W/O/W emulsions stabilized with complexed biopolymers: Evaluation of their stability and release. *Food chemistry*, 272, 478-487.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in food science & technology*, 21(10), 510-523.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food chemistry*, 129(3), 1139-1147.
- Fathi, M., Mozafari, M. R., &Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in food science & technology*, 23(1), 13-27.
- Gharehbeglou, P., Jafari, S. M., Homayouni, A., Hamishekar, H., &Mirzaei, H. (2019). Fabrication of double W1/O/W2 nano-emulsions loaded with oleuropein in the internal phase (W1) and evaluation of their release rate. *Food Hydrocolloids*, 89, 44-55.
- Gomes, F., &Canhoto, J. M. (2009). Micropropagation of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) from adult plants. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 45, 72-82.
- Gormaz, J. G., Valls, N., Sotomayor, C., Turner, T., & Rodrigo, R. (2016). Potential role of polyphenols in the prevention of cardiovascular diseases: molecular bases. *Current medicinal chemistry*, 23(2), 115-128.
- Gullon, B., Lú-Chau, T. A., Moreira, M. T., Lema, J. M., &Eibes, G. (2017). Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in food science & technology*, 67, 220-235.
- Herrero, E., Ros, J., Bellí, G., &Cabiscol, E. (2008). Redox control and oxidative stress in yeast cells. *BiochimicaetBiophysicaActa (BBA)-General Subjects*, 1780(11), 1217-1235.
- Hu, L., Zhang, J., Hu, Q., Gao, N., Wang, S., Sun, Y., & Yang, X. (2016). Microencapsulation of bruceajavanica oil: Characterization, stability and optimization of spray drying conditions. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 36, 46-54.
- Jafari, S. M. (2017). An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. *Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries*, 1-34.
- 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.

## Références bibliographiques

---

- Jia, Z., Dumont, M. J., & Orsat, V. (2016). Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. *Food Bioscience*, 15, 87-104.
- Jurica, K., Gobin, I., Kremer, D., Čepo, D. V., Grubešić, R. J., Karačonji, I. B., & Kosalec, I. (2017). Arbutin and its metabolite hydroquinone as the main factors in the antimicrobial effect of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves. *Journal of Herbal Medicine*, 8, 17-23.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Kavosi, M., Mohammadi, A., Shojaee-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(7), 2490-2497.
- Kechkar, M. M. (2008). Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire du Magister de l'Université Mentouri, Constantine. *AbidatKhawla, MebarkiKhaoula.(2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre Thymus. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.*
- Khan, M. F., & Wang, G. (2018). Environmental agents, oxidative stress and autoimmunity. *Current opinion in toxicology*, 7, 22-27.
- Kurek, M. A., Majek, M., Onopiuk, A., Szpicier, A., Napiórkowska, A., & Samborska, K. (2023). Encapsulation of anthocyanins from chokeberry (*Aroniamelanocarpa*) with plasmolyzed yeast cells of different species. *Food and Bioproducts Processing*, 137, 84-92.
- Larionova, N. V., Kazanskaya, N. F., Larionova, N. I., Ponchel, G., & Duchene, D. (1999). Preparation and characterization of microencapsulated proteinase inhibitor aprotinin. *BIOCHEMISTRY C/C OF BIOKHMIIA*, 64, 857-862.
- Legssyer, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Bnouham, M., Herrenknecht, C., Roumy, V., ...& Fischmeister, R. (2004). Tannins and catechingallate mediate the vasorelaxant effect of *Arbutus unedo* on the rat isolated aorta. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(11), 889-894.
- Lim, T. K. (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Vol. 1, pp. 656-687). Dordrecht, The Netherlands::SpringerKrüssmann, G., & Epp, M. E. (1982). Pocket guide to choosing woody ornamentals.
- López-Córdoba, A., Deladino, L., Agudelo-Mesa, L., & Martino, M. (2014). Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: Stability during storage. *Journal of Food Engineering*, 124, 158-165.
- Lu, W., Kelly, A. L., & Miao, S. (2016). Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 1-9.

## Références bibliographiques

---

- Luthria, D. L., Mukhopadhyay, S., & Krizek, D. T. (2006). Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of food composition and analysis*, 19(8), 771-777.
- Macheroux, P., Schmid, J., Amrhein, N., & Schaller, A. (1999). A unique reaction in a common pathway: mechanism and function of chorismate synthase in the shikimate pathway. *Planta*, 325-334.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International journal of food science & technology*, 41(1), 1-21.
- Maeta, K., Nomura, W., Takatsume, Y., Izawa, S., & Inoue, Y. (2007). Green tea polyphenols function as prooxidants to activate oxidative-stress-responsive transcription factors in yeasts. *Applied and environmental microbiology*, 73(2), 572-580.
- Maldini, M., D'Urso, G., Pagliuca, G., Petretto, G. L., Foddai, M., Gallo, F. R., ...& Pintore, G. (2019). HPTLC-PCA complementary to HRMS-PCA in the case study of *Arbutus unedo* antioxidant phenolic profiling. *Foods*, 8(8), 294.
- Maleš, Ž., Plazibat, M., Bilušić Vundać, V., & Žuntar, I. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree-*Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta pharmaceutica*, 56(2), 245-250.
- Manach, C., Mazur, A., & Scalbert, A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current opinion in lipidology*, 16(1), 77-84.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- MANALLAH, A. (2012). *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive* Président: Pr. BOURICHE Rapporteur: Pr. BELATTAR Nouredine. Pr. Examineur: Pr. BOUZIDI Pr. AMIRA / وزارة / و / ا / Sétif / ة و / (Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas).
- Maqsoodlou, A., Assadpour, E., Mohebodini, H., & Jafari, S. M. (2020). Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers. *Advances in Colloid and Interface Science*, 278, 102122.
- Martín, S., González-Burgos, E., Carretero, M. E., & Gómez-Serranillos, M. P. (2013). Protective effects of Merlot red wine extract and its major polyphenols in PC12 cells under oxidative stress conditions. *Journal of food science*, 78(1), H112-H118.
- Mendes, L. I. S. (2010). *Estudo do efeito protector da folha e fruto da espécie *Arbutus unedo* L. na danificação oxidativa em eritrócitos humanos* (Doctoral dissertation, [sn]).
- Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale. *Edition Bahaeddine*, 107-133.

## Références bibliographiques

---

- Meyer, A. S., Dam, B. P., & Lærke, H. N. (2009). Enzymatic solubilization of a pectinaceous dietary fiber fraction from potato pulp: optimization of the fiber extraction process. *Biochemical Engineering Journal*, 43(1), 106-112.
- Mignet, N., Seguin, J., & Chabot, G. G. (2013). Bioavailability of polyphenol liposomes: a challenge ahead. *Pharmaceutics*, 5(3), 457-471.
- Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Guerreiro, A. C., & Antunes, M. D. (2014). *Arbutus unedo* L.: chemical and biological properties. *Molecules*, 19(10), 15799-15823.
- Mokhtari, S., Jafari, S. M., Khomeiri, M., Maghsoudlou, Y., & Ghorbani, M. (2017). The cell wall compound of *Saccharomyces cerevisiae* as a novel wall material for encapsulation of probiotics. *Food Research International*, 96, 19-26.
- Mokhtari, S., Khomeiri, M., Jafari, S. M., Maghsoudlou, Y., & Ghorbani, M. (2017). Descriptive analysis of bacterial profile, physicochemical and sensory characteristics of grape juice containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall-coated probiotic microcapsules during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(4), 1042-1048.
- Moreno-Jiménez, E., Penalosa, J. M., Carpena-Ruiz, R. O., & Esteban, E. (2008). Comparison of arsenic resistance in Mediterranean woody shrubs used in restoration activities. *Chemosphere*, 71(3), 466-473.
- Morgado, S., Morgado, M., Plácido, A. I., Roque, F., & Duarte, A. P. (2018). *Arbutus unedo* L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy. *Journal of ethnopharmacology*, 225, 90-102.
- Mrabti, H. N., Marmouzi, I., Sayah, K., Chemlal, L., El Ouardi, Y., Elmsellem, H., ... & Faouzi, M. A. (2017). *Arbutus unedo* L aqueous extract is associated with in vitro and in vivo antioxidant activity. *J. Mater. Environ. Sci*, 8(1), 217-224.
- Mrabti, H. N., Sayah, K., Jaradat, N., Kichou, F., Ed-Dra, A., Belarj, B., ... & Faouzi, M. E. A. (2018). Antidiabetic and protective effects of the aqueous extract of *Arbutus unedo* L. in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 15(3).
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia food science*, 1, 1806-1815.
- Nguyen, T. T., Phan-Thi, H., Pham-Hoang, B. N., Ho, P. T., Tran, T. T. T., & Waché, Y. (2018). Encapsulation of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins as natural colours in yeast. *Food research international*, 107, 275-280.
- Olajuyigbe, O. O., & Afolayan, A. J. (2011). Phenolic content and antioxidant property of the bark extracts of *Ziziphismucronata* Willd. subsp. *mucronata* Willd. *BMC Complementary and Alternative medicine*, 11, 1-8.
- Oliveira, I. (2010). *Phytochemical characterization of leaves and fruits of Arbutus unedo* L (Doctoral dissertation, Master thesis in food quality and safety, Polytechnic Institute of Bragança, Portugal).

## Références bibliographiques

---

- Olszowy, M. (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143.
- Orlean, P. (2012). Architecture and biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Genetics*, 192(3), 775-818.
- Özcan, M. M., & Hacıseferoğulları, H. (2007). The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1022-1028.
- Pabuçcuoğlu, A., Kırçak, B., Baş, M., & Mert, T. (2003). Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves. *Fitoterapia*, 74(6), 597-599.
- Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J. C., Del Castillo, M. D., Cano, M. P., & de Pascual-Teresa, S. (2008). Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(4), 273-281.
- Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. (2011). Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry*, 125(3), 892-902.
- Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. (2011). Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry*, 125(3), 892-902.
- Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 26(5), 1214-1218.
- Ramirez-Ambrosi, M., Caldera, F., Trotta, F., Berrueta, L. A., & Gallo, B. (2014). Encapsulation of apple polyphenols in  $\beta$ -CD nanosponges. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 80, 85-92.
- 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.
- 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.
- Robert, P., Gorená, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., & Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punicagranatum*) by spray drying. *International journal of food science & technology*, 45(7), 1386-1394.
- Robert, P., Gorená, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., & Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punicagranatum*) by spray drying. *International journal of food science & technology*, 45(7), 1386-1394.
- Ru, Q., Yu, H., & Huang, Q. (2010). Encapsulation of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) using oil-in-water (O/W) submicrometer emulsions stabilized by  $\iota$ -carrageenan and  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(19), 10373-10381.

## Références bibliographiques

---

- Rubio, F. T. V., Haminiuk, C. W. I., Maciel, G., Silva, M. P., & Fávoro-Trindade, C. S. (2018). Utilization of residual yeast as a carrier material for encapsulation of bioactive compounds. *Abstracts ICBC*.
- Ruphuy, G., Saloň, I., Tomas, J., Šalamúnová, P., Hanuš, J., & Štěpánek, F. (2020). Encapsulation of poorly soluble drugs in yeast glucan particles by spray drying improves dispersion and dissolution properties. *International journal of pharmaceutics*, 576, 118990.
- 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.
- Salari, R., Bazzaz, B. S. F., Rajabi, O., & Khashyarmanesh, Z. (2013). New aspects of *Saccharomyces cerevisiae* as a novel carrier for berberine. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21, 1-8.
- Sanchez, V., Baeza, R., Galmarini, M. V., Zamora, M. C., & Chirife, J. (2013). Freeze-drying encapsulation of red wine polyphenols in an amorphous matrix of maltodextrin. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1350-1354.
- Sandoval-Acuña, C., Ferreira, J., & Speisky, H. (2014). Polyphenols and mitochondria: An update on their increasingly emerging ROS-scavenging independent actions. *Archives of biochemistry and biophysics*, 559, 75-90.
- Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (Eds.). (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Techniques & documentation.
- Saulou, C., Jamme, F., Maranges, C., Fourquaux, I., Despax, B., Raynaud, 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, 1441-1450.
- Sauvage, F. X., Bach, B., Moutounet, M., & Vernhet, A. (2010). Proteins in white wines: Thermo-sensitivity and differential adsorption by bentonite. *Food Chemistry*, 118(1), 26-34.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.
- Seidemann, J. (1995). Knowledge of little-known exotic fruits. 5. Strawberry tree (*Arbutus unedo* L.). *Deutsche LebensmittelRundschau*, 91(4), 110-113.
- Seifu, D., Assefa, F., & Abay, S. M. (2012). Medicinal plants as antioxidant agents: understanding their mechanism of action and therapeutic efficacy. *Medicinal Plants as Antioxidant Agents: Understanding Their Mechanism of Action and Therapeutic Efficacy*, 97-145.
- Shahidi, F., & Yeo, J. (2016). Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*, 21(9), 1216.
- Shi, G., Rao, L., Yu, H., Xiang, H., Pen, G., Long, S., & Yang, C. (2007). Yeast-cell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1060-1067.

## Références bibliographiques

---

- Shi, G., Rao, L., Yu, H., Xiang, H., Pen, G., Long, S., & Yang, C. (2007). Yeast-cell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1060-1067.
- Simchua, W., Narkkong, N. A., & Baimark, Y. (2011). Silk fibroin nanospheres for controlled gentamicin sulfate delivery. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 1(1), 34-41.
- Sulusoglu, M. E. L. E. K. B. E. R., Cavusoglu, A., & Erkal, S. (2011). Arbutus unedo L. (Strawberry tree) selection in Turkey Samanlı mountain locations. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(15), 3545-3551.
- Summerlin, N., Soo, E., Thakur, S., Qu, Z., Jambhrunkar, S., & Papat, A. (2015). Resveratrol nanoformulations: challenges and opportunities. *International journal of pharmaceutics*, 479(2), 282-290.
- Szeghalmi, A., Kaminskyj, S., & Gough, K. M. (2007). A synchrotron FTIR microspectroscopy investigation of fungal hyphae grown under optimal and stressed conditions. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387, 1779-1789.
- Taamalli, A., Arráez-Román, D., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2012). The Occurrence and Bioactivity of Polyphenols in Tunisian Olive Products and by-Products: A Review. *Journal of food science*, 77(4), R83-R92.
- Taïlé, J. (2021). *Étude des altérations fonctionnelles des cellules endothéliales cérébrales en condition hyperglycémique associée au diabète: rôle protecteur des polyphénols de plantes médicinales* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).
- Tavares, L., Fortalezas, S., Carrilho, C., McDougall, G. J., Stewart, D., Ferreira, R. B., & Santos, C. N. (2010). Antioxidant and antiproliferative properties of strawberry tree tissues. *Journal of Berry Research*, 1(1), 3-12
- Taylor, T. M., Weiss, J., Davidson, P. M., & Bruce, B. D. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(7-8), 587-605.
- Tenuta, M. C., Deguin, B., Loizzo, M. R., Dugay, A., Acquaviva, R., Malfa, G. A., ... & Tundis, R. (2020). Contribution of flavonoids and iridoids to the hypoglycaemic, antioxidant, and nitric oxide (NO) inhibitory activities of Arbutus unedo L. *Antioxidants*, 9(2), 184.
- Tenuta, M. C., Tundis, R., Xiao, J., Loizzo, M. R., Dugay, A., & Deguin, B. (2019). Arbutus species (Ericaceae) as source of valuable bioactive products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(6), 864-881.
- Tonelli, N., & Gallouin, F. (2013). (2013). *Des fruits et des graines comestibles du monde entier*. Lavoisier.
- Torres, J. A., Valle, F., Pinto, C., García-Fuentes, A., Salazar, C., & Cano, E. (2002). Arbutus unedo L. communities in southern Iberian Peninsula mountains. *Plant Ecology*, 160, 207-223.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Valentine, D.H., Walters, S.W., Webb, D.A., 1981. *Flora Europaea* (Cambridge Univ.) 3, 118.

## Références bibliographiques

---

- Volf, I., Ignat, I., Neamtu, M., & Popa, V. I. (2014). Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. *Chemical Papers*, 68, 121-129.
- Waterhouse, A. (1999). Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine. *American Journal of Enology and Viticultur*, 28(1), 49-55.
- Wilkowska, A., Ambroziak, W., Czyzowska, A., & Adamiec, J. (2016). Effect of microencapsulation by spray-drying and freeze-drying technique on the antioxidant properties of blueberry (*Vaccinium myrtillus*) juice polyphenolic compounds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66(1), 11.
- Wink, M. (1997). Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in plant vacuoles. In *Advances in botanical research* (Vol. 25, pp. 141-169). Academic Press.
- Xie, J., & Schaich, K. M. (2014). Re-evaluation of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(19), 4251-4260.
- Yadav, V. R., Prasad, S., Kannappan, R., Ravindran, J., Chaturvedi, M. M., Vaahtera, L., ...& Aggarwal, B. B. (2016). Cyclodextrin-complexed curcumin exhibits anti-inflammatory and antiproliferative activities superior to those of curcumin through higher cellular uptake (vol 80, vol 1021, 2010). *Biochemical pharmacology*.
- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., & Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*, 6(2), 115-123.
- Yunxiang, C., Kaisai, Z., & Tiyu, G. (2002). FTIR study of microbes. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 23(6), 1047-1049.
- Zhou, H., Sun, X., Zhang, L., Zhang, P., Li, J., & Liu, Y. N. (2012). Fabrication of biopolymeric complex coacervation core micelles for efficient tea polyphenol delivery via a green process. *Langmuir*, 28(41), 14553-14561.
- Zhou, W., Huang, Q., Wu, X., Zhou, Z., Ding, M., Shi, M., ...& Kai, G. (2017). Comprehensive transcriptome profiling of *Salvia miltiorrhiza* for discovery of genes associated with the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids. *Scientific Reports*, 7(1), 10554.
- Zuidam, N. J., & Shimoni, E. (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*, 3-29.