

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie Physico-Chimique*  
*Spécialité Biochimie Appliquée*



Réf : .....

**Mémoire de Fin de Cycle**  
**En vue de l'obtention du diplôme**  
**MASTER**  
*Thème*

**Etude de l'effet antioxydant des flavonoïdes  
encapsulés d'une plante médicinale**

**Présenté par :**

**KEDDAR Farah & KHAFI Sara**

**Soutenu le : 03 juillet 2025**

Devant le jury composé de :

<b>Mme CHAHER-BAZIZI N.</b>	<b>MCA</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme KHETTAL B.</b>	<b>Pr</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mme ZEMOURI-ALIOUI S.</b>	<b>MCA</b>	<b>Examinatrice</b>

## *Dédicace*

*Avec toute ma gratitude, je dédie ce travail à ceux  
qui m'ont soutenue tout au long de ce parcours.*

*À mon père **Mohand Saïd**, pour sa force, son soutien  
et ses précieux conseils,*

*À ma mère **Rebíha**, pour sa patience infinie, ses  
sacrifices et son amour inconditionnel,*

*À ma petite sœur **Melina**, toujours là avec son  
énergie,*

*À mon petit frère **Badis**, pour son soutien quotidien,*

*À mes tantes **Dída** et **Samía**, pour leur amour et  
leurs encouragements,*

*À leurs maris et leurs enfants, pour leur gentillesse  
et leur présence,*

*Et ma meilleure amie **Yasmine**, véritable pilier dans  
les moments difficiles comme dans les moments de  
bonheur.*

*Sara*

## *Dédicace*

*C'est avec une profonde émotion, une immense reconnaissance et beaucoup d'amour que je tiens à dédier ce travail aux personnes qui comptent le plus pour moi.*

*À mes chers grands-parents, **Baya et LAHLOU**, véritables piliers de ma vie. Vous êtes ma force silencieuse, ma stabilité, et ma source d'amour inconditionnel. Vos prières, votre tendresse et votre sagesse m'ont accompagnée dans chaque étape de mon parcours. Ce travail vous est dédié avec tout mon cœur.*

*À ma tante **Saïda** et son mari **Karim**, pour votre soutien, votre présence rassurante et votre générosité. Merci de m'avoir entourée de votre bienveillance et de m'avoir soutenue dans les moments importants.*

*À mes parents, **Nouredine et Katia**, je vous remercie du plus profond de mon cœur. Vous êtes un repère essentiel dans ma vie, et je vous aime infiniment.*

*À mon frère **Lotfi** et ma sœur **Maïssa**, mes deux forces, mes soutiens les plus fidèles. Merci pour votre amour, votre encouragement constant et votre confiance en moi.*

*À toute ma famille, en particulier mes tantes et mes oncles, merci pour vos mots d'encouragement, votre affection et votre présence bienveillante tout au long de ce chemin.*

**FARAH**

## ***Remerciements***

*Avant tout, nous remercions Dieu « ALLAH » le Tout-Puissant de nous avoir accordé la force et la patience pour mener à bien ce travail.*

*C'est avec beaucoup de reconnaissance que nous remercions notre promotrice, Professeure Khettal Bachra, pour sa disponibilité, son écoute et ses précieux conseils qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.*

*Nous exprimons également notre profonde gratitude à Madame CHAHER-BAZIZI. N, Présidente du jury, ainsi qu'à Madame ZEMOURI-ALIOUI. S, pour l'attention portée à notre travail, leurs remarques constructives et leur bienveillance lors de l'évaluation.*

*Nous remercions également Meriem et Lydia, ingénieurs du laboratoire pédagogique du département de Biologie Physico-chimiques, pour leur aide précieuse lors de la réalisation d'une partie de ce travail.*

*Nos remerciements vont également à l'ensemble des enseignants du département de Biologie physico-chimique de l'université de Béjaïa, ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont soutenus de près ou de loin.*

## ***Table des matières***

*Liste des tableaux*

*Liste des figures*

*Liste des abréviations*

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>I. Revue bibliographique .....</b>	<b>2</b>
<b>I.1.Stress oxydatif et antioxydants .....</b>	<b>2</b>
<b>I.1.1. Définition du stress oxydatif .....</b>	<b>2</b>
<b>I.1.2. Radicaux libre et espèces réactives de l'oxygène.....</b>	<b>2</b>
<b>I.1.3. Rôles physiologiques des ERO.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1.4. Pathologies associées au stress oxydatif.....</b>	<b>3</b>
<b>I.1.5. Le système antioxydants .....</b>	<b>4</b>
<b>I.2. Principaux composés antioxydants végétaux .....</b>	<b>6</b>
<b>I.2.1. Les polyphénols .....</b>	<b>6</b>
<b>I.2.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des polyphénols et flavonoïdes .....</b>	<b>8</b>
<b>I.3. Encapsulation des extraits et substances antioxydants .....</b>	<b>9</b>
<b>I.3.1. Définition et objectifs .....</b>	<b>9</b>
<b>I.3.2. Principales techniques d'encapsulation.....</b>	<b>9</b>
<b>I.3.3. Applications des antioxydants phénoliques encapsulés .....</b>	<b>10</b>
<b>I.4. Les plantes utilisées dans l'étude.....</b>	<b>13</b>
<b>I.4.1. La Menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>) .....</b>	<b>13</b>
<b>I.4.2. Les autres plantes.....</b>	<b>15</b>
<b>II. Matériel et méthodes .....</b>	<b>18</b>
<b>II.1. Matériel végétal.....</b>	<b>18</b>
<b>II.2. Méthodes .....</b>	<b>19</b>
<b>II.2.1. Préparation du matériel végétal et Extraction.....</b>	<b>19</b>
<b>II.2.2. Dosage des composés phénoliques .....</b>	<b>19</b>
<b>II.3 Evaluation de l'activité antioxydants.....</b>	<b>20</b>
<b>II.3.1. Piégeage du radical DPPH.....</b>	<b>20</b>
<b>II. 3.2. Neutralisation du peroxyde d'hydrogène.....</b>	<b>21</b>
<b>II. 3.3. Évaluation du pouvoir réducteur par le permanganate de potassium.....</b>	<b>22</b>
<b>II.4. Encapsulation de l'extrait aqueux de Menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>) .....</b>	<b>22</b>
<b>II.4.1. Encapsulation dans l'alginate de sodium.....</b>	<b>22</b>

II.4.2. Détermination du taux d'encapsulation.....	23
II.4.2.1. Libération des composés phénoliques encapsulés .....	23
II.4.2.2. Dosage des composés phénoliques .....	23
II.4.2.3. Calcul du rendement d'encapsulation.....	24
II.4.3. Mesure du pouvoir antioxydants de l'extrait de Menthe poivrée encapsulé.....	24
II.5. Analyses statistiques .....	24
<b>III. Résultats et discussion.....</b>	<b>25</b>
III.1. Rendement d'extraction .....	25
III.2. Teneurs des Composés phénoliques .....	26
III.2.1. Polyphénols totaux .....	26
III.2.2. Flavonoïdes .....	27
III.2.3. Analyse de corrélation TPC–TFC .....	28
III.3. Pouvoir antioxydants des extraits de plantes .....	29
III.3.1. Piégeage du radical DPPH .....	29
III.3.2. Neutralisation du peroxyde d'hydrogène .....	31
III.3.3. Pouvoir réducteur .....	32
III.4. Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante .....	34
III.5. Rendement et Activité antioxydante de l'extrait de menthe poivrée encapsulé .....	35
III.5.1. Observation morphologique des capsules .....	35
III.5.2. Rendement d'encapsulation.....	37
III.5.3. Pouvoir antioxydants de l'extrait encapsulé.....	38
<b>Conclusion .....</b>	<b>40</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I:</b> Exemples de pathologies liées au stress oxydatif et mécanismes impliqués .....	4
<b>Tableau II:</b> Objectifs et avantages spécifiques de l'encapsulation des polyphénols pour divers domaines applications .....	11
<b>Tableau III:</b> Potentiel thérapeutique des composés phénoliques encapsulés .....	12
<b>Tableau IV:</b> Études récentes sur l'encapsulation d'extraits de <i>Mentha piperita</i> .....	14
<b>Tableau V:</b> Valeurs d'IC <sub>50</sub> (µg/mL) pour le piégeage du radical DPPH.....	30
<b>Tableau VI:</b> Valeurs d'IC <sub>50</sub> (µg/mL) pour Neutralisation du H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	31
<b>Tableau VII:</b> Valeurs d'IC <sub>50</sub> (µg/mL) pour la réduction du KMnO <sub>4</sub> .....	33
<b>Tableau VIII:</b> Coefficients de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits végétaux.....	34
<b>Tableau IX:</b> Rendement d'encapsulation des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les capsules d'alginate de sodium selon deux méthodes de libération .....	37
<b>Tableau X:</b> Efficacité antioxydants de l'extrait aqueux de menthe poivrée ( <i>Mentha piperita</i> ) encapsulé dans l'alginate de sodium et libéré par diffusion passive ou par sonication .....	38

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène .....	2
<b>Figure 2:</b> Structures des différentes classes de flavonoïdes.....	7
<b>Figure 3 :</b> Photos originelles des plantes utilisés séchées.....	18
<b>Figure 4:</b> Réaction de réduction du radical DPPH. ....	21
<b>Figure 5:</b> Histogramme représentant les rendements d'extraction par décoction aqueuse des plantes étudiées.....	25
<b>Figure 6:</b> Histogramme représentant les teneurs en polyphénols extraits par décoction aqueuse des plantes étudiées .....	26
<b>Figure 7:</b> Histogramme représentant les différents taux de flavonoïdes extraits par décoction aqueuse des plantes étudiées .....	27
<b>Figure 8:</b> Corrélation entre le taux de flavonoïdes et le taux de polyphénols totaux .....	29
<b>Figure 9:</b> Taux d'inhibition du radical DPPH• en fonction des concentrations des extraits aqueux des plantes étudiées .....	29
<b>Figure 10 :</b> Taux d'inhibition de neutralisation de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en fonction de la concentration des extraits aqueux des plantes étudiées. ....	31
<b>Figure 11 :</b> Taux de réduction du KMnO <sub>4</sub> en fonction des concentrations des extraits aqueux des plantes étudiées. ....	33
<b>Figure 12 :</b> Observation macroscopique et microscopique des capsules d'alginate avec et sans extrait de menthe poivrée.....	36



## ***Liste des abréviations***

**AA** : Activité Antioxydante

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AG** : Acide Gallique

**COX** : Cyclooxygénase

**Eq.AG** : Equivalent Acide Gallique

**Eq.Q** : Equivalent Quercétine

**ERO** : Espèces réactives d'oxygène

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSH** : Glutathion oxydé

**IC<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibition à 50%

**LOX** : Lipoxygénase

**MS** : Matière Sèche

**SOD** : Superoxyde dismutase

**TFC** : Total Flavonoid Content (Teneur en Flavonoïdes Totaux)

**TPC** : Total Phenolic Content (Teneur en Polyphénols Totaux)

**Trx** : Thioredoxine

**UV** : Ultra-violet

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité de l'organisme à les neutraliser. Ces ERO, générées par le métabolisme normal ou par des facteurs exogènes (polluants, radiations), peuvent endommager les lipides, les protéines et l'ADN, contribuant ainsi à de nombreuses pathologies dégénératives, cancéreuses et cardiovasculaires (Hajam et *al.*, 2022).

Face à ce phénomène, l'organisme dispose de systèmes de défense parmi lesquels les antioxydants naturels jouent un rôle clé. Les composés végétaux, riches en molécules bioactives, représentent une source importante d'antioxydants. Parmi eux, les flavonoïdes se distinguent par leur structure polyhydroxylée, leur permettant de neutraliser efficacement les radicaux libres et de protéger les cellules contre l'oxydation (Middleton et *al.*, 2000).

Cependant, leur application est souvent limitée par une instabilité intrinsèque face à la lumière, à la chaleur, au pH et à l'oxygène, menant à leur dégradation et à une diminution de leur activité biologique. Afin de remédier à cette fragilité, des techniques comme la microencapsulation ont été développées. L'encapsulation dans des matrices biocompatibles telles que l'alginate de sodium permet de protéger les flavonoïdes, de prolonger leur stabilité et de contrôler leur libération progressive (Ameer et *al.*, 2017).

Dans ce contexte, notre étude vise à évaluer le potentiel antioxydant de neuf plantes médicinales riches en composés phénoliques et flavonoïdes. Parmi elles, la menthe poivrée (*Mentha piperita*), qui a présenté une forte activité antioxydante, a été encapsulée par gélification ionique à l'aide d'alginate de sodium, puis soumise à des tests d'évaluation de son activité antioxydante, notamment le piégeage du radical DPPH, la neutralisation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le pouvoir réducteur.

Le présent manuscrit est structuré en trois parties :

- Une revue bibliographique portant sur le stress oxydatif, les antioxydants d'origine végétale, les flavonoïdes, ainsi que les techniques d'encapsulation, leurs objectifs et leurs applications.
- Une présentation du matériel et des méthodes mises en œuvre, incluant l'extraction, le dosage des composés phénoliques et flavonoïdes polaire par décoction aqueuse, ainsi que l'encapsulation de l'extrait de la menthe poivrée ;
- Une analyse des résultats obtenus, accompagnée d'une discussion scientifique plus ou moins approfondie.

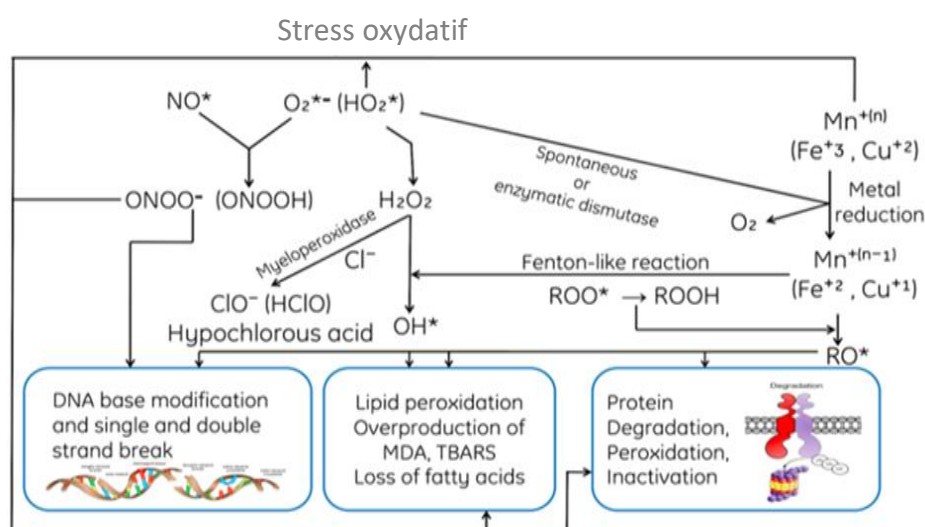
## I.1. Stress oxydatif et antioxydants

### I.1.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est un état de déséquilibre cellulaire entre la production de radicaux libres — notamment les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité des systèmes antioxydants à les neutraliser. Lorsqu'il persiste, ce stress entraîne une diminution des antioxydants cellulaires et une réduction de l'activité des enzymes antioxydantes, favorisant ainsi des altérations aux biomolécules essentielles (ADN, lipides et protéines). Ce processus contribue au développement de diverses pathologies, notamment les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, le diabète et certains cancers (Hajam et *al.*, 2022).

### I.1.2. Radicaux libre et espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres sont des espèces chimiques caractérisées par la présence d'un électron non apparié sur leur couche périphérique, ce qui les rend hautement réactifs. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont des molécules dérivées de l'oxygène qui sont très réactives chimiquement. Certaines de ces ERO sont des radicaux libres, Elles jouent un double rôle dans les systèmes biologiques : elles peuvent être bénéfiques, mais aussi délétères lorsqu'elles sont produites en excès (stress oxydatif) car lorsqu'ils sont produits en excès, ces radicaux peuvent endommager les membranes cellulaires (lipides), altérer les protéines enzymatiques et muter l'ADN, entraînant un dysfonctionnement cellulaire (Figure 1) (Migdal et Serres, 2011).



**Figure 1:** Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Hajam et *al.*, 2022).

Les ERO sont produits de manière physiologique lors du métabolisme cellulaire (notamment dans les mitochondries), mais également en réponse à des facteurs exogènes tels que : La pollution, les radiations UV, le tabac, certains médicaments, le stress psychologique ou oxydatif et une alimentation déséquilibrée.

Parmi les ERO les plus courantes, on retrouve le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), Le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (Goudable et Favier, 1997).

### **I.1.3. Rôles physiologiques des ERO**

Malgré leur potentiel délétère, les ERO remplissent également des fonctions biologiques essentielles.

- Signalisation cellulaire : Les ERO jouent un rôle de messager secondaire dans la signalisation intracellulaire. Par exemple, le  $H_2O_2$  peut activer certaines protéines kinases (JNK), entraînant l'expression de gènes liés à l'apoptose via les protéines BCL2 (Migdal et Serres, 2011).
- Réponse immunitaire : Lors des processus de défense, les phagocytes produisent des ERO pour éliminer les agents pathogènes. Ces molécules contribuent à la destruction microbienne, à l'activation des cellules immunitaires et à la modulation des réponses inflammatoires (Migdal et Serres, 2011).

### **I.1.4. Pathologies associées au stress oxydatif**

Le stress oxydatif est impliqué dans un grand nombre de pathologies humaines, en tant que facteur déclencheur ou amplificateur de processus pathologiques. Avec l'âge, une augmentation de la production de radicaux libres, associée à une baisse de la capacité antioxydante endogène, aggrave les effets délétères du stress oxydatif (Favier, 2003).

**Tableau I:** Exemples de pathologies liées au stress oxydatif et mécanismes impliqués (Hajam et *al.*, 2022 ; Liguori et *al.*, 2018)

Maladie	Rôle des ERO dans la pathologie
Hypertrophie cardiaque	Activation de la NADPH oxydase par l'angiotensine II → ERO → inflammation, fibrose, apoptose myocardique via cytochrome C.
Maladie d'Alzheimer	ERO → accumulation de plaques $\beta$ -amyloïdes, phosphorylation de la protéine tau, dommages mitochondriaux, inflammation, apoptose neuronale.
Diabète sucré	L'hyperglycémie → production de ERO → altération des cellules $\beta$ pancréatiques, inflammation, résistance à l'insuline.
Cardiopathies néphropathies	ERO → oxydation des LDL → activation de Nox, vasoconstriction, nécrose tubulaire et ischémie rénale.
Cancer	ERO → mutations de l'ADN, activation de voies pro-inflammatoires (NF- $\kappa$ B), inhibition de l'apoptose, favorisant la prolifération tumorale.

### I.1.5. Le système antioxydants

#### I.1.5.1. Définition

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant l'oxydation d'un substrat au sein de l'organisme. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires) ((Pisoschi et *al.*, 2021) ;

#### I.1.5.2. Typologie des antioxydants et leurs mécanismes d'action

Les antioxydants peuvent être classés en deux catégories : les antioxydants endogènes, composée principalement d'enzymes spécifiques et de petites molécules protectrices et les antioxydants exogènes fournis principalement par une alimentation variée et riche en produits végétaux. Les antioxydants exogènes complètent l'action des systèmes endogènes et sont essentiels dans la prévention de nombreuses maladies chroniques. (Valko et *al.* 2006)

### **A. Antioxydants endogènes :**

*La superoxyde dismutase (SOD)* : transforme le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), moins toxique.

*La catalase* : dégrade le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, empêchant ainsi sa transformation en radicaux hydroxyles très agressifs.

*La glutathion peroxydase* : utilise le glutathion réduit (GSH) pour transformer le peroxyde en eau.

*Le glutathion*, tripeptide abondant dans les cellules, joue un rôle double : neutralisation directe des radicaux libres et régénération d'autres antioxydants comme la vitamine C ou E. Sa synthèse dépend de la disponibilité de certains acides aminés (glycine, cystéine, glutamate).

*La Thioredoxine (Trx)* Réduit les protéines oxydées et régénère d'autres antioxydants.

### **B. Antioxydants exogènes**

#### **Les vitamines :**

Vitamine C (acide ascorbique) : hydrosoluble, elle neutralise les radicaux libres dans les milieux aqueux du corps (plasma, cytoplasme).

Vitamine E (tocophérol) : liposoluble, elle protège les membranes cellulaires riches en lipides en piégeant les radicaux peroxy ( $LOO^{\bullet}$ ).

Bêta-carotène (provitamine A) : pigment antioxydant des fruits et légumes orange/rouge. Il peut se transformer en vitamine A selon les besoins de l'organisme. Piégeage des radicaux libres et de l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ).

#### **Les minéraux :**

Sélénium : cofacteur indispensable de la glutathion peroxydase, il se trouve dans les noix du Brésil, poissons, œufs.

Zinc : intervient dans l'activation de la SOD ; présent dans les fruits de mer, les légumineuses, les céréales complètes.

**Composés phytochimiques** (polyphénols, caroténoïdes...) :

Les polyphénols sont une grande famille de substances présentes dans les végétaux. Ils possèdent de puissantes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, et même anticancéreuses. Ces composés piègent les radicaux libres, inhibent les enzymes pro-oxydantes et modulent les voies de signalisation cellulaire liées à l'inflammation et à l'apoptose.

### **I.2. Principaux composés antioxydants végétaux**

Les antioxydants végétaux appartiennent à différentes familles de composés phytochimiques, dont les plus étudiées sont : Les polyphénols notamment les flavonoïdes qui sont piègeurs puissants de radicaux libres, qui peuvent également chélater les métaux pro-oxydants et moduler les enzymes antioxydantes.

#### **I.2.1. Les polyphénols**

Les polyphénols, constituent une vaste classe de substances d'origine végétale, regroupant actuellement plus de 8000 composés identifiés. Ils ont en commun la présence d'au moins un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (OH). Ces composés sont généralement hydrosolubles, notamment parce qu'ils sont souvent associés à des sucres sous forme de glycosides. Ils se localisent principalement dans les vacuoles des cellules végétales (Harborne,1973).

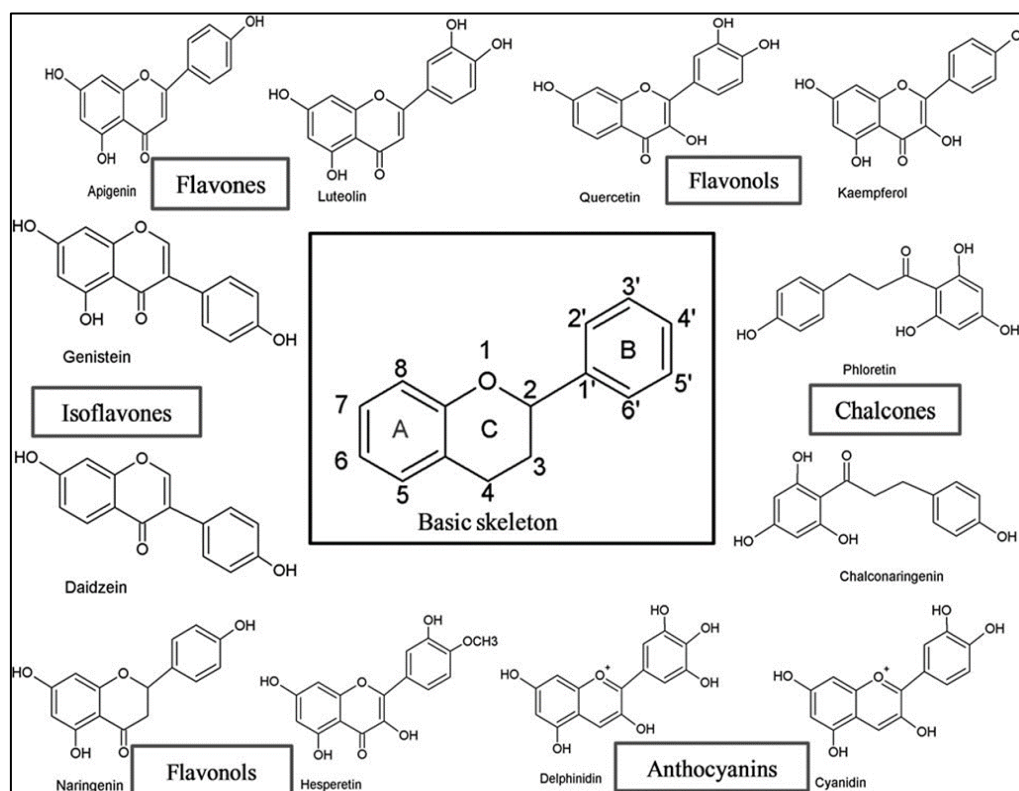
La distribution des composés phénoliques varie considérablement, aussi bien d'une espèce à l'autre que selon les organes, les tissus végétaux ou les stades de développement de la plante (Macheix,1996). Leur synthèse est souvent déclenchée par divers stress, qu'ils soient d'origine environnementale ou physiologique. Parmi ceux-ci, on peut citer les infections par des agents pathogènes, les attaques d'insectes, l'exposition aux rayons UV, les températures basses ou encore les blessures mécaniques (Khoddami et *al.*,2013).

Les composés phénoliques sont généralement classés en cinq grandes familles : les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins, les stilbènes et les lignanes (Cheynier, 2012). Les flavonoïdes se distinguent par leur importance, ils sont largement distribués chez les plantes et jouent un rôle fondamental dans leur métabolisme secondaire (Macheix et *al.*, 2005).

### I.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une large famille de composés naturels appartenant au groupe des polyphénols. Ils sont souvent qualifiés de pigments quasi omniprésents dans le monde végétal. On les retrouve principalement au niveau de l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits, où ils contribuent à des teintes allant du jaune pâle au jaune doré. Ces composés peuvent exister sous forme libre ou conjuguée. Toutefois, leur localisation exacte au sein des cellules végétales demeure partiellement élucidée. Certaines études suggèrent qu'ils seraient stockés dans la vacuole et/ou dans le réticulum endoplasmique (Yao et *al.*, 2004).

Les flavonoïdes ont en commun une voie de biosynthèse identique, ce qui leur confère une structure de base semblable (Figure 2). Toutefois, ils se répartissent en six grandes sous-classes, définies par des différences dans leur structure moléculaire (Figure 2). Ces variations découlent principalement de plusieurs facteurs, parmi lesquels : la position de la liaison entre les cycles B et C ; le degré de saturation du cycle C et le niveau d'oxydation et d'hydroxylation du noyau hétérocyclique central C.



**Figure 2:** Structures des différentes classes de flavonoïdes (Panche et *al.*, 2016).



### **I.2.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des polyphénols et flavonoïdes**

Les flavonoïdes exercent une large gamme d'effets biologiques bénéfiques, reposant sur divers mécanismes d'action. Leur activité antioxydante se manifeste par la neutralisation directe des radicaux libres ( $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{ROO}\cdot$ ) grâce à leurs groupements hydroxyles, contribuant ainsi à la protection contre le stress oxydatif, au ralentissement du vieillissement cellulaire et à la prévention des maladies chroniques (Middleton et al., 2000).

En tant que vasculo-protecteurs, ils agissent sur la paroi vasculaire et les capillaires en stabilisant la perméabilité endothéliale et en améliorant la microcirculation, ce qui contribue à prévenir l'hypertension et à réduire le risque d'accidents vasculaires (Galati et O'Brien, 2004).

Leur action anti-allergique s'explique par l'inhibition enzymatique de la libération d'histamine au niveau des mastocytes, permettant ainsi de diminuer les réactions allergiques et d'améliorer l'état inflammatoire lié aux allergies (Kawai et al., 2008).

Les flavonoïdes possèdent également des propriétés anti-inflammatoires via l'inhibition des enzymes COX et LOX, bloquant la biosynthèse des médiateurs inflammatoires issus de l'acide arachidonique. Cela permet de réduire l'inflammation chronique et de prévenir diverses pathologies inflammatoires (Guardia et al., 2001).

Sur le plan gastro-intestinal, leur effet anti-ulcérogène se manifeste par une stimulation des prostaglandines et une inhibition des leucotriènes, renforçant la protection de la muqueuse gastrique et prévenant les ulcères notamment ceux induits par l'éthanol (Alarcón de la Lastra et al., 1994).

Par ailleurs, les flavonoïdes montrent une activité antimicrobienne par inhibition enzymatique, perturbation des membranes cellulaires et blocage de la réplication virale, contribuant à la prévention et au traitement de certaines infections (Cushnie et Lamb, 2005).

Enfin, leurs effets anti-cancéreux se traduisent par l'induction de l'apoptose des cellules tumorales, l'inhibition de leur prolifération et de l'angiogenèse tumorale, ce qui favorise la prévention du développement de certains cancers et la limitation de la croissance tumorale (Middleton et al., 2000).

### I.3. Encapsulation des extraits et substances antioxydants

#### I.3.1. Définition et objectifs

L'encapsulation est une technique qui consiste à enfermer un ingrédient actif (comme un composé sensible) dans un matériau protecteur appelé matrice ou agent d'encapsulation sous forme de microcapsules ou nano capsules. Ce procédé permet de protéger les substances bioactives sensibles contre des conditions extérieures défavorables et de contrôler sa libération là où il est nécessaire et d'améliorer la solubilité et la biodisponibilité. Elle est utilisée dans plusieurs domaines, notamment l'agroalimentaire, la pharmacie et la cosmétique (Rani et *al.*, 2023).

#### I.3.2. Principales techniques d'encapsulation

L'encapsulation peut être réalisée par différentes méthodes selon la nature des substances actives à encapsuler, la matrice utilisée, l'objectif recherché (protection, libération ciblée, amélioration de la solubilité, etc.) et le domaine d'application.

Plusieurs techniques d'encapsulation ont été développées pour protéger et libérer de manière contrôlée divers composés bioactifs (Munin & Edwards-Lévy, 2011 ; Choudhury Meghwal & Das, 2021). Parmi les plus couramment utilisées :

**L'atomisation (ou spray drying)** consiste à pulvériser un mélange liquide contenant le principe actif et un matériau d'enrobage (comme l'amidon, la gomme arabique ou la gélatine) dans une chambre chauffée. Cette méthode permet la formation de microcapsules de 10 à 400 µm. Elle présente l'avantage d'être économique, industrialisable, et efficace pour encapsuler des composés sensibles, tout en assurant un bon contrôle de la forme poudreuse du produit final.

**La gélification ionique**, décrite notamment par Choudhury Meghwal & Das (2021), repose sur la capacité de certains polysaccharides (notamment l'alginate et le chitosane) à former des gels en présence d'ions multivalents tels que  $\text{Ca}^{2+}$ . Cette méthode génère des microbilles de 250 à 2500 µm et se distingue par sa douceur, sa simplicité et sa capacité à préserver des actifs sensibles. Elle permet aussi une libération ciblée, notamment au niveau intestinal.

**L'encapsulation par émulsification**, également abordée par Munin & Edwards-Lévy (2011), est une technique polyvalente impliquant la formation d'une émulsion (huile dans eau)

contenant l'actif à encapsuler. Les gouttelettes sont stabilisées par des tensioactifs, puis solidifiées. Elle permet d'obtenir des capsules ou des poudres de tailles variées (0,2 à 5000  $\mu\text{m}$ ). Cette méthode est compatible avec d'autres procédés et offre une bonne protection des actifs, particulièrement dans les systèmes à double phase.

**La coacervation complexe**, fondée sur la séparation de phase entre deux polymères, généralement une protéine (comme la gélatine) et un polysaccharide (comme la gomme arabique ou la carraghénane), permet de former une coque autour de l'actif (Munin & Edwards-Lévy, 2011). Ce procédé, conduisant à des microparticules de 10 à 800  $\mu\text{m}$ , est particulièrement efficace pour protéger des composés hydrophobes. Il permet également une libération contrôlée et utilise des matériaux naturels, le rendant compatible avec de nombreuses applications industrielles.

**La nano-précipitation**, technique plus récente citée par Choudhury Meghwal & Das (2021), repose sur la précipitation d'un polymère autour de l'actif dissous dans un solvant organique, suivi de son transfert dans une phase aqueuse sous agitation. Ce procédé simple et rapide permet de produire des nanocapsules, idéales pour les substances lipophiles, avec une libération ciblée et une meilleure absorption.

**L'encapsulation liposomale** utilise des liposomes — des vésicules sphériques composées de bicouches lipidiques — qui peuvent encapsuler aussi bien des composés hydrophiles (dans leur cœur aqueux) que lipophiles (dans leur membrane). Cette méthode, mentionnée par les deux sources, est biocompatible, améliore la biodisponibilité des actifs et permet une libération contrôlée, ce qui en fait une solution prometteuse notamment en pharmacie et en cosmétique

### I.3.3. Applications des antioxydants phénoliques encapsulés

Grâce à leurs propriétés antioxydantes, les polyphénols en général et les flavonoïdes en particulier présentent un large spectre d'applications en santé, nutrition et cosmétique. Cependant, leur faible stabilité chimique et leur biodisponibilité limitée restreignent leur efficacité thérapeutique et fonctionnelle. L'encapsulation constitue une stratégie innovante visant à améliorer la protection, la solubilité et la délivrance ciblée de ces composés optimisant leurs performances dans divers domaines d'application. (Tableau II).

Quelques exemples d'application des polyphénols encapsulés en thérapeutique sont donnés dans le tableau III.

**Tableau II :** Objectifs et avantages spécifiques de l'encapsulation des polyphénols pour divers domaines applications (Ozkan et *al.*, 2019).

Domaine d'application	Objectifs	Avantages spécifiques
Agroalimentaire	Protéger les polyphénols pendant la transformation et le stockage Prolonger la durée de conservation des aliments ;	Réduction de l'oxydation lipidique (rancissement) Masquage des goûts amers Films actifs enrichis en antioxydants
Pharmaceutique Nutraceutique	Améliorer la biodisponibilité Cibler la libération (intestin, cellules) Protéger contre la dégradation gastro-intestinale	Libération prolongée des polyphénols Prévention du stress oxydatif Utilisation en compléments alimentaires
Cosmétique	Stabiliser les actifs sensibles (UV, oxygène, chaleur) Améliorer la pénétration cutanée Libération prolongée	Soins anti-âge Crèmes antioxydantes Protection contre les radicaux libres et la pollution
Matériaux / Emballages actifs	Intégrer les antioxydants dans des matrices polymères Libérer de manière contrôlée selon les conditions (humidité, chaleur)	Films biodégradables actifs Revêtements alimentaires ou pharmaceutiques Emballages intelligents

**Tableau III** : Potentiel thérapeutique des composés phénoliques encapsulés (Ozkan et *al.*, 2024)

Composé phénolique/extrait de plante	Méthode d'encapsulation	Propriétés thérapeutiques	Résultats
Extrait Phénolique de pépins de raisin	Liposome	Anti-âge, hydratation, éclat de la peau	Réduction des rides, amélioration de l'éclat et de l'hydratation de la peau
Extrait phénolique d'arachide	Séchage par pulvérisation (spray drying)	Tolérance orale au glucose	Réduction du pic de glucose postprandial après ingestion de glucose
Extrait phenolique de thé vert	Émulsion eau-dans-silicone	Soin de la Peau du visage	Amélioration de l'élasticité de la peau, réduction des rides
Catéchine extraite du thé vert	Phytosome à base de lécithine	Cancer du sein précoce	Augmentation de la biodisponibilité de l'EGCG, accumulation dans les tissus tumoraux mammaires
Rutine	Éthosome	Effet anti-inflammatoire	Amélioration des effets anti-inflammatoires et antioxydants de la rutine
Anthocyanes de maïs	Niosomes (méthode du film mince)	Cicatrisation des plaies	Accélération de la cicatrisation, réduction de la douleur liée aux plaies buccales,
Podophyllotoxine	Nanogel	Traitement du condylome acuminé	Amélioration significative du taux de guérison, réduction du temps de traitement et du taux de récurrence, diminution des effets secondaires
Acide férulique	Amidon phosphorylé	Éclaircissement de la peau, anti-âge	Diminution de la teneur en mélanine, augmentation de l'élasticité cutanée globale
Acide rosmarinique	Émulsion	Dermatite atopique	Diminution de l'érythème, de l'œdème et des suintements
Acide protocatéchique	Lyophilisation	Thérapie de la dégénérescence discale	Réduction de l'espace intervertébral et de la dégénérescence discale

## **I.4. Les plantes utilisées dans l'étude**

### **I.4.1. La Menthe poivrée (*Mentha piperita*)**

#### **I.4.1.1. Description botanique**

*Mentha piperita*, plus communément appelée menthe poivrée, est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Lamiacées. Il s'agit d'un hybride naturel issu du croisement entre *Mentha aquatica* et *Mentha spicata*. La plante se caractérise par une tige quadrangulaire typique des Lamiacées, ainsi que par des feuilles opposées, dentées, de forme lancéolée et de couleur vert foncé. Ses fleurs, disposées en épis terminaux, présentent une teinte pourpre. L'ensemble de la plante dégage une forte odeur aromatique, attribuable à sa richesse en composés volatils (McKay et Blumberg, 2006).

#### **I.4.1.2. Composition chimique**

La menthe poivrée est riche en composés bioactifs qui lui confèrent ses propriétés pharmacologiques. Sa composition est dominée par les huiles essentielles, dont les principaux constituants sont le menthol (35 à 45 %), la menthone, l'isomenthone, le menthyl acétate et le 1,8-cinéole. Elle contient également divers flavonoïdes, notamment la lutéoline, l'ériocitrine, l'apigénine et la diosmine. Parmi les acides phénoliques présents, on retrouve l'acide rosmarinique et l'acide caféique. D'autres composés secondaires tels que les tanins, triterpènes et saponines contribuent également à son activité biologique. (McKay et Blumberg, 2006)

#### **I.4.1.3. Effets thérapeutiques démontrés**

De nombreuses études ont mis en évidence les propriétés thérapeutiques de *Mentha piperita*, qui en font une plante médicinale largement utilisée. Elle possède une activité antioxydante significative, capable de neutraliser les radicaux libres et de limiter les dommages oxydatifs au niveau cellulaire (McKay et Blumberg, 2006). Sur le plan antimicrobien, son extrait a montré une efficacité contre plusieurs souches bactériennes pathogènes ainsi que des levures, renforçant son potentiel en tant qu'agent naturel antimicrobien (Sokovic et al., 2009).

La menthe poivrée exerce également une activité anti-inflammatoire, en modulant la production de médiateurs pro-inflammatoires, tels que les cytokines (Kamatou et al., 2013). Enfin, elle est reconnue pour ses propriétés antispasmodiques, particulièrement utiles dans le soulagement des

douleurs abdominales et dans la prise en charge du syndrome de l'intestin irritable, grâce à son action relaxante sur les muscles lisses intestinaux (Khanna et *al.*, 2014).

#### I.4.1.4. Travaux antérieurs sur l'encapsulation de *Mentha piperita*

Plusieurs recherches ont porté sur l'encapsulation des extraits de *Mentha piperita* afin de valoriser ses composés bioactifs, notamment les antioxydants, en améliorant leur stabilité, leur libération ciblée ou leur biodisponibilité. Le tableau IV ci-dessous résume quelques études représentatives menées à ce sujet.

**Tableau IV :** Études récentes sur l'encapsulation d'extraits de *Mentha piperita*

Références	Technique d'encapsulation	Objectif principal	Résultats obtenus
Yarmohamm Barbarestani et <i>al.</i> , 2017	Gélification ionique de l'extrait alcoolique	Protection des antioxydants et libération contrôlée	Libération prolongée et maintien de l'activité antioxydante
Sobti et <i>al.</i> , 2023	Emulsion double (eau/huile/eau) avec des protéines végétales de l'extrait aqueux	Amélioration de la stabilité et de la bioaccessibilité	Taux d'encapsulation élevé, excellente stabilité, Application dans l'alimentation fonctionnelle.
Kalušević et <i>al.</i> , 2016	Séchage par atomisation de l'extrait sec	Formulation de poudres enrichies en antioxydants	Bonne conservation et stabilité des composés actifs et durant stockage.
Dias et <i>al.</i> , 2016	Gélification ionique de divers plantes	Évaluation des méthodes d'encapsulation adaptées aux polyphénols	Technique simple et économique, adaptée aux extraits riches en composés phénoliques.

#### **I.4.2. Les autres plantes**

##### **I.4.2.1. Camomille (*Matricaria chamomilla*)**

*Matricaria chamomilla* est une plante annuelle de la famille des Astéracées, caractérisée par une tige dressée et ramifiée, des feuilles finement divisées et des capitules composés de fleurs jaunes (disque) et blanches (ligules), dégageant une agréable odeur aromatique (Hänsel et Sticher, 2004).

Sa composition contient : Des huiles essentielles : chamazulène,  $\alpha$ -bisabolol, farnésène ; Des flavonoïdes (apigénine, lutéoline, quercétine) ; Des acides phénoliques : acide caféique, acide chlorogénique (Singh et *al.*, 2011)

Elle offre plusieurs effets thérapeutiques avérés : Une activité anti-inflammatoire, utile pour apaiser les inflammations muqueuses et cutanées ; Une activité antioxydante, protégeant les cellules contre le stress oxydatif ; Un effet calmant et sédatif, bénéfique en cas de troubles du sommeil et d'anxiété légère ; Un effet spasmolytique, soulageant les crampes digestives (McKay et Blumberg, 2006).

##### **I.4.2.2. Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*)**

*Hibiscus rosa-sinensis* est un arbuste vivace de la famille des Malvacées, aux grandes fleurs rouges à cinq pétales et aux feuilles ovales brillantes avec un calice persistant (Ali et *al.*, 2005). Les principales classes de composés actifs sont : les anthocyanes (delphinidine, cyanidine) ; les acides organiques (citrique, malique) ; les flavonoïdes (quercétine, hibiscétine) et les polysaccharides et mucilages (Da-Costa-Rocha et *al.*, 2014).

Ses effets thérapeutiques comprennent : L'activité antioxydante ; L'activité antihypertensive ; L'effet hypocholestérolémiant ; L'effet diurétique (Hopkins et *al.*, 2013).

##### **I.4.2.3. Curcuma (*Curcuma longa*)**

*Curcuma longa* est une plante vivace à rhizome charnu de la famille des Zingibéracées, dotée de feuilles allongées et d'une inflorescence en épi à fleurs jaunes, avec un rhizome orange vif utilisé comme épice et remède traditionnel (Ammon et Wahl, 1991).

Elle contient : des curcuminoïdes (curcumine, déméthoxycurcumine) ; des Huiles essentielles (turmérone, zingibérène), des Flavonoïdes (kaempférol, quercétine) et des polysaccharides et protéines (Prasad et *al.*, 2014).



Ses effets thérapeutiques avérés comprennent : Une activité anti-inflammatoire ; Une activité antioxydante ; Un effet hépatoprotecteur ; Un effet antitumoral (Aggarwal et *al.*, 2007)

### **I.4.2.4. Romarin (*Salvia rosmarinus*)**

*Salvia rosmarinus* est un arbrisseau méditerranéen à feuilles persistantes, appartenant à la famille des Lamiacées. Il possède des feuilles linéaires coriaces et des fleurs bleu pâle en épis courts, avec une odeur aromatique caractéristique (Perry et *al.*, 1999).

Sa composition est riche en Huiles essentielles (1,8-cinéole, camphre, bornéol) ; phénols (acide rosmarinique, acide carnosique) ; flavonoïdes (diosmine, lutéoline) ; Triterpènes et tanins (Nieto et *al.*, 2018).

Les propriétés thérapeutiques du romarin comprennent : l'activité antioxydante, l'effet antimicrobien ; l'activité anti-inflammatoire et l'effet neuroprotecteur (Borrás-Linares et *al.*, 2014).

### **I.4.2.5. Badiane (*Illicium verum*)**

*Illicium verum* est un arbre tropical de la famille des Schisandracées, reconnaissable à ses fruits secs en forme d'étoile à huit follicules. Les feuilles sont elliptiques et persistantes, les fleurs jaunâtres et très aromatiques (Zheng et *al.*, 1992).

Sa composition est riche en huiles essentielles (anéthol (>85 %)) ; flavonoïdes (quercétine, kaempférol) ; Tanins ; lignanes ; Acides phénoliques (férulique, gallique) (Wang et *al.*, 2011).

Les propriétés thérapeutiques de la badiane comprennent les activités : effet antimicrobien, l'activité antioxydants ; les activités carminatif et antiviral (Deng et *al.*, 2010).

### **I.4.2.6. Clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)**

Issu des boutons floraux séchés d'un arbre tropical de la famille des Myrtacées. Les fleurs apparaissent roses avant ouverture, et les bourgeons dégagent une forte odeur épicée (Chaieb et *al.*, 2007).

Sa composition est riche en huiles essentielles (eugénol (>70 %), acétate d'eugényle) ; flavonoïdes (quercétine, kaempférol) ; Acides phénoliques (acide gallique) ; Tanins, saponines, triterpènes (Prashar et *al.*, 2006).

Le clou de girofle est un Antioxydant puissant, un antiseptique ; analgésique et antifongique (Chaieb et *al.*, 2007).

### **I.4.2.7. Thé vert (*Camellia sinensis*)**

*Camellia sinensis* est un arbuste à feuilles persistantes de la famille des Théacées, originaire d'Asie. Il porte des feuilles coriaces et des fleurs blanches solitaires (Cabrera et *al.*, 2006).

Sa composition est riche en Catéchines, EGCG, épicatechine, Caféine, théobromine, flavonoïdes (quercétine, kaempférol), acide gallique (Balentine et *al.*, 1997).

Le Thé vert est connu pour ces bienfaits thérapeutiques comme antioxydant, cardioprotecteur, stimulant et anticancéreux potentiel (Cabrera et *al.*, 2006).

### **I.4.2.8. Cannelle (*Cinnamomum cassia*)**

*Cinnamomum cassia* est un arbre tropical à écorce aromatique brune, appartenant à la famille des Lauracées. Ses feuilles sont ovales et alternes, ses fleurs petites et jaunâtres (Gruenwald et *al.*, 2010).

Sa composition est riche en : huiles essentielles (cinnamaldéhyde, eugénol), flavonoïdes (quercétine, kaempférol), Acides phénoliques (caféique, férulique), tanins, coumarines (Shan et *al.*, 2005).

Les effets thérapeutiques de la cannelle sont : Antioxydant, antidiabétique ; antimicrobien et Anti-inflammatoire (Ranasinghe et *al.*, 2013).

## II.1. Matériel végétal

Dans le cadre de la présente étude, neuf espèces végétales ont été sélectionnées en raison de leur richesse potentielle en composés phénoliques et reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Le matériel végétal a été acquis auprès d'un herboriste établi dans le quartier Séghir à Béjaïa. La sélection comprend à la fois des plantes locales (Curcuma, Menthe poivrée, romarin, badiane, le the vert et la cannelle) facilement disponibles et couramment utilisées dans la pharmacopée traditionnelle de la région, ainsi que des espèces exotiques connues pour leur concentration élevée en principes actifs naturels : la camomille et le clou de girofle (Indonesie), Hibiscus (Egypte) (Figure 3).

		
<b>Romarin</b> Feuilles de <i>Salvia rosmarinus</i>	<b>Thé vert</b> Feuilles de <i>Camellia sinensis</i>	<b>Cannelle</b> Ecorce de <i>cinnamomum cassia</i>
		
<b>Menthe poivrée</b> Feuilles de <i>Mentha piperita</i>	<b>Hibiscus</b> Fleurs de <i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	<b>Curcuma</b> Rhizome de <i>Curcuma longa</i>
		
<b>Badiane</b> Fruit d' <i>Illicium verum</i>	<b>Clou de girofle</b> Boutons floraux de <i>Syzygium aromaticum</i>	<b>Camomille</b> Fleurs de <i>Matricaria chamomilla</i>

**Figure 3 :** Photos originelles des plantes utilisés séchées

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Préparation du matériel végétal et Extraction

Les plantes ont d'abord été débarrassées de leurs impuretés, puis séchées à l'ombre et à température ambiante pendant quelques jours. Une fois complètement sèches, les plantes ont été finement découpées en copeaux afin d'augmenter la surface de contact avec l'eau, facilitant ainsi l'extraction.

L'extraction a été réalisée avec de l'eau par méthode de décoction selon le protocole décrit par (Chavane et *al.*, 2001), avec quelques modifications. Une quantité de 40 g de poudre végétale ont été introduite dans un volume de 800 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition (100 °C) pendant 10 minutes. La décoction est rapidement refroidie dans un bain de glace, afin de préserver les composés sensibles à la chaleur, centrifugée à 3 000 rpm pendant 10 minutes et le surnageant obtenu est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman afin d'obtenir un extrait limpide. Le filtrat obtenu a ensuite subi une évaporation dans une étuve aérée à 40°C pendant 48 à 72H.

**Calcul des Rendements d'extraction :** Le rendement d'extraction permet de mesurer l'efficacité de l'extraction d'une substance à partir d'un matériau végétal. Il est généralement exprimé en pourcentage (%) et se calcule à partir de la masse de l'extrait sec obtenue par rapport à la masse initiale de la plante utilisée (Carré, 1953) selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait sec (g)}}{\text{Masse de la plante sèche utilisée (g)}} \times 100$$

### II.2.2. Dosage des composés phénoliques

#### II.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin-Ciocalteu réagit avec les groupements hydroxyles des composés phénoliques, produisant un complexe bleu qui absorbe généralement à 765 nm et dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en polyphénols. (Singleton et Rossi, 1965). Le protocole utilisé est celui décrit par (Sousek et *al.*, 1999). Une prise de 100 µl de

l'extrait aqueux d'une concentration de 1mg/ml est mélangée avec 400 µl d'eau distillée et 125 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, 1,25 ml de carbonate de sodium à 7 % sont additionnés. Le mélange obtenu est ensuite ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après incubation à l'obscurité pendant 90 minutes, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 725 nm contre un blanc ne contenant pas l'extrait.

**Expression des résultats :** La teneur en composés phénoliques totaux des extraits végétaux a été déterminée selon un protocole standard, en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec différentes concentrations en acide gallique (10-80 µg/ml) dans l'eau distillé (Annexe 1). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents acide gallique par gramme de matière sèche (mg Éq. AG/g MS).

### II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

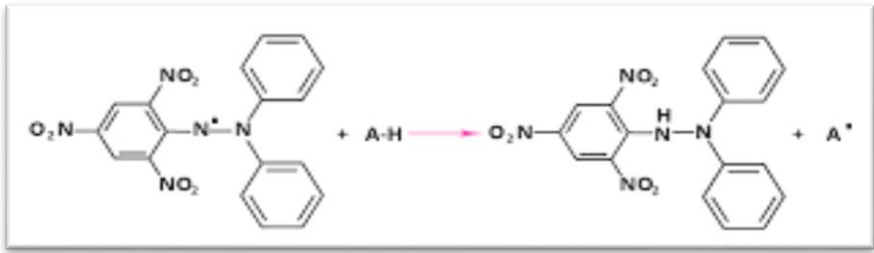
Les flavonoïdes contenus dans les extraits éthanoliques sont estimés par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  (Ayoola et al., 2008). Un volume de 1 ml de chaque extrait dilué dans l'éthanol 50%, a été mélangé avec 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 2 %. Après une incubation de 10 minutes à température ambiante, l'absorbance du mélange a été mesurée à 430 nm contre un blanc ne contenant pas d'extrait.

**Expression des résultats :** La concentration en flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec des solutions standards de quercétine de concentrations allant de 0 à 10 µg/ml (Annexe 1). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents quercétine par gramme de matière sèche (mg Eq.Q/g MS).

## II.3 Evaluation de l'activité antioxydants

### II.3.1. Piégeage du radical DPPH

Le test du Piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été réalisé selon la méthode décrite par (Şahin et al., 2004). Le DPPH est un radical libre stable, de couleur violette intense, qui présente une forte absorption à 517 nm. En présence d'un antioxydant, le DPPH est réduit en forme non radicalaire (DPPH-H), de couleur jaune pâle (Figure 4). Cette réduction s'accompagne d'une diminution mesurable de l'absorbance à 517 nm.



**Figure 4 :** Réaction de réduction du radical DPPH (Popovici et *al.*, 2009).

Le test a été réalisé selon la méthode décrite par Şahin et *al.*, (2004). Des volumes aliquotes de 50, 100, 200, 300, 400 et 500 µl de solution éthanolique 50% d'extrait phénolique ont été mélangés avec 100 µL de solution méthanolique DPPH•. Le mélange a été incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes, et l'absorbance a été mesurée à 517 nm par rapport au contrôle réalisé dans les mêmes conditions et ne contenant pas l'extrait.

**Expression du résultat :** L'activité anti-radicalaire (AA) est estimée en taux d'inhibition du radical libre DPPH• selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

- $\mathcal{A}_{\text{Control}}$  = Absorbance du DPPH seul
- $\mathcal{A}_{\text{Echantillon}}$  = Absorbance du DPPH en présence de l'extrait testé

### II. 3.2. Neutralisation du peroxyde d'hydrogène

Lorsqu'un antioxydant est présent, il réagit avec le peroxyde d'hydrogène en l'atténuant ou en le neutralisant. La concentration de  $H_2O_2$  restante est ensuite quantifiée par spectrophotométrie, généralement à 230 nm, longueur d'onde où le peroxyde d'hydrogène absorbe fortement.

La capacité des extraits à neutraliser le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) a été déterminée en suivant la méthode décrite par El-haci et *al.*, (2014) avec quelques modifications. Une quantité de 75  $\mu$ L de solution de  $H_2O_2$  à concentration de 20mM préparée dans du tampon phosphate (pH 7,4) a été mélangée avec différentes volume d'extraits de plantes (50 à 2000  $\mu$ L) préparés à deux concentration 1 mg/ml et 0,1 mg/ml. Le mélange ensuite été complété à 3ml avec du tampon phosphate. Après une incubation de 10 minutes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 230 nm. Le contrôle positif a été réalisé sans extrait, dans les mêmes conditions.

**Expression du résultat :** Le taux de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en % a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de piégeage du H}_2\text{O}_2 \text{ (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

- $A_{\text{Control}}$  = Absorbance du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seul
- $A_{\text{Echantillon}}$  = Absorbance du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de l'extrait testé

### II. 3.3. Évaluation du pouvoir réducteur par le permanganate de potassium

Le pouvoir des extraits à réduire le permanganate de potassium (KMnO<sub>4</sub>) a été évalué selon la méthode décrite par Amponsah et *al.*, (2016). Un volume de 3 mL de solution de KMnO<sub>4</sub> à 0,9 mM, préparée dans un tampon phosphate (pH 9), a été mélangée à différents volumes d'extraits préparés à une concentration de 1 mg/mL. Le volume a été ajusté à 4 mL avec de l'eau distillée. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 526 nm. Un blanc a été préparé avec la solution de KMnO<sub>4</sub> seule.

**Expression du résultat :** Le pourcentage de réduction du KMnO<sub>4</sub> a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de réduction du KMnO}_4 \text{ (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

- $A_{\text{Control}}$  = Absorbance du KMnO<sub>4</sub> seul
- $A_{\text{Echantillon}}$  = Absorbance du KMnO<sub>4</sub> en présence de l'extrait testé

## II.4. Encapsulation de l'extrait aqueux de Menthe poivrée (*Mentha piperita*)

### II.4.1. Encapsulation dans l'alginate de sodium

L'encapsulation de l'extrait aqueux de menthe poivrée a été réalisée par la méthode de gélification ionique (Chai et al., 2004), en utilisant une solution d'alginate de sodium à 1,5 %. Pour obtenir l'extrait, 200 mg de poudre de menthe poivrée ont été soumis à une décoction dans 40 mL d'eau distillée (soit une concentration de 5 mg/mL), puis le mélange a été filtré. L'extrait aqueux obtenu a ensuite été utilisé pour la préparation des capsules. À ce dernier, 600 mg

d'alginate de sodium ont été ajoutés. Le mélange a été mis sous agitation douce pendant 30 minutes à température ambiante, jusqu'à dissolution complète de l'alginate. En parallèle, une solution témoin d'alginate à 1,5 % sans extrait a été préparée dans les mêmes conditions.

Le bain de réticulation a été préparé en dissolvant 1 % de chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) dans 40 mL d'eau distillée. L'encapsulation a été effectuée en introduisant les solutions d'alginate (avec ou sans extrait) goutte à goutte dans le bain de  $\text{CaCl}_2$  à l'aide d'une micropipette, ce qui a induit une gélification instantanée et la formation de sphères d'alginate. Après une réticulation de 2 minutes, les billes obtenues ont été récupérées par filtration et rincées à l'eau distillée pour éliminer tout trace de  $\text{CaCl}_2$ .

### II.4.2. Détermination du taux d'encapsulation

L'efficacité d'encapsulation des composés phénoliques a été évaluée à travers le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes libérés après encapsulation. La libération complète des composés a été obtenue soit par diffusion passive à travers la matrice d'alginate, soit par dégradation de cette matrice à l'aide d'ultrasons. (Wardhani, et *al.*, 2021)

#### II.4.2.1. Libération des composés phénoliques encapsulés

**Méthode de diffusion passive :** Les billes d'alginate ont été immergées dans 10 mL de tampon phosphate (pH 7) et incubées sous agitation douce à température ambiante pendant des durées de 4 heures. Après incubation, le mélange a été centrifugé à 3500 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu a été récupéré pour l'analyse.

**Méthode par sonication :** Les billes d'alginate ont été placées dans 10 mL de tampon phosphate (pH 7) et soumises à un traitement par ultrasons dans un bain sonore pendant 15 minutes. Le mélange a été ensuite centrifugé à 3500 rpm pendant 10 minutes, puis le surnageant a été récupéré pour analyse.

#### II.4.2.2. Dosage des composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les surnageants ont été déterminées par des méthodes colorimétriques utilisant respectivement le réactif de Folin-Ciocalteu et le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), selon les protocoles décrits précédemment.



### **II.4.2.3. Calcul du rendement d'encapsulation**

Le rendement d'encapsulation a été exprimé en pourcentage de composés libérés, séparément pour les flavonoïdes et les polyphénols totaux, selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \left[ \frac{\text{Quantité libéré}}{\text{Quantité initialement encapsulée}} \right] \times 100$$

### **II.4.3. Mesure du pouvoir antioxydants de l'extrait de Menthe poivrée encapsulé**

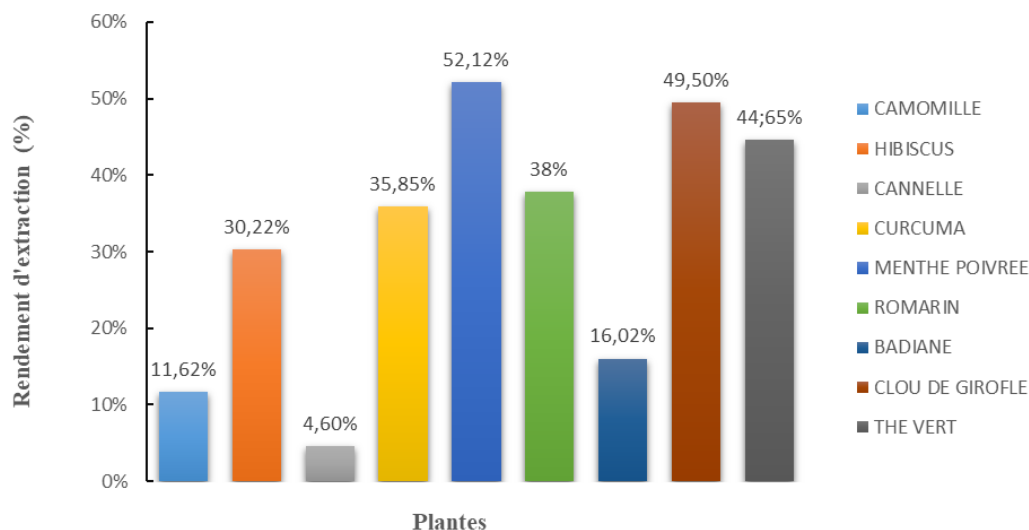
1 ml d'extrait de menthe poivrée libéré des billes d'alginate par sonication ou diffusion a été mélangé aux solutions de DPPH, de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou de permanganate de potassium (KMnO<sub>4</sub>), selon le test d'activité antioxydante considéré. Après incubation, les absorbances des solutions ont été mesurées à leurs longueurs d'onde spécifiques. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition ou en équivalents standards, conformément aux protocoles décrits précédemment.

## **II.5. Analyses statistiques**

Les analyses ont été effectuées à l'aide des logiciels Microsoft Excel et R (R GUI). Les données sont présentées sous forme de moyennes accompagnées de l'écart-type. Des courbes dose-réponse ont permis d'estimer l'activité antioxydante des extraits, et les valeurs d'IC<sub>50</sub> ont été obtenues par ajustement à une courbe sigmoïde. Le seuil de signification a été fixé à  $p < 0,05$ .

### III.1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction par décoction aqueuse des différentes parties des différentes plantes obtenus (Figure 5) présentent une variation significative, allant de 4,60 % à 52,12 %. Cette hétérogénéité peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment l'espèce végétale, la nature de l'organe utilisé (feuilles, écorce, boutons floraux, rhizomes), ainsi que la composition chimique propre à chaque plante.



**Figure 5 :** Histogramme représentant les rendements d'extraction par décoction aqueuse des plantes étudiées

**Plantes à rendements élevés (>40 %) :** La menthe poivrée (52,12 %), le clou de girofle (49,50 %) et le thé vert (44,65 %) présentent les taux d'extraction les plus élevés. Ces résultats s'expliquent par une forte teneur en composés hydrosolubles (phénoliques et volatils) et une faible proportion de lignine et de fibres dans les feuilles et boutons floraux utilisés. Selon (Koffi et *al.* 2010) et (Mahmoudi et *al.* 2013), une structure végétale peu fibreuse et riche en composés solubles facilite la diffusion du solvant. De plus, la température élevée utilisée dans la décoction améliore la libération des composés actifs (Majhenic et *al.*, 2007), notamment les substances glucidiques et protéiques (Békro et *al.*, 2007).

**Plantes à rendements moyens (30–40 %) :** Le romarin (38 %), le curcuma (35,85 %) et l'hibiscus (30,22 %) présentent des rendements intermédiaires. Le curcuma, bien que riche en curcuminoïdes peu solubles, reste partiellement extractible à l'eau chaude. Le romarin, quant à lui, contient des polyphénols hydrosolubles, expliquant son rendement (Perva-Uzunalic et *al.*,

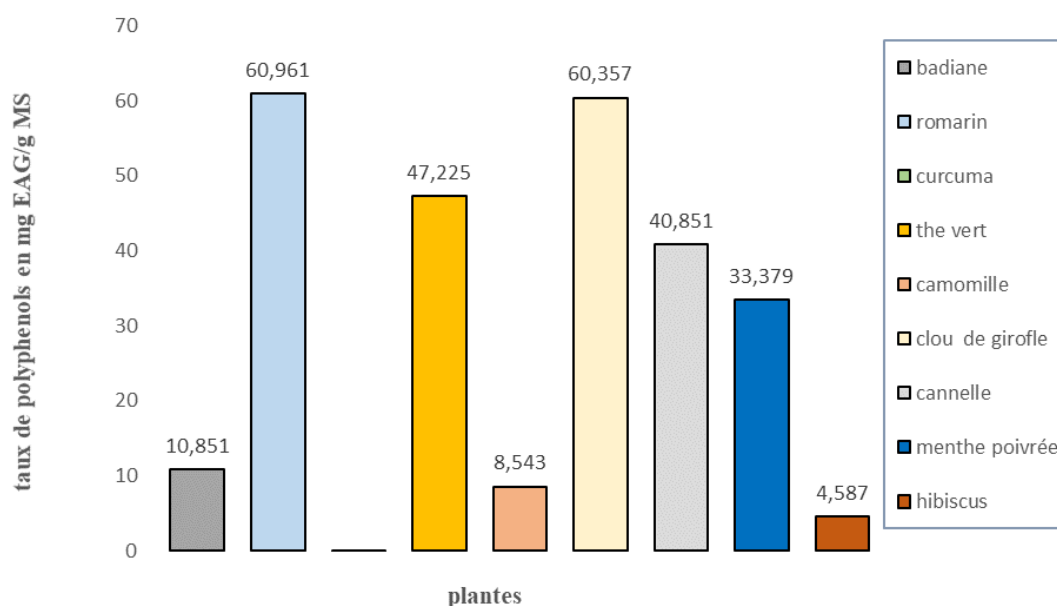
2006). L'eau, en tant que solvant polaire, est capable d'extraire divers types de composés, y compris non phénoliques (Bonnaillie et *al.*, 2012).

**Plantes à rendements faibles (<20 %) :** Les plus faibles rendements sont observés pour la camomille (11,62 %), la badiane (16,02 %) et la cannelle (4,60 %). La faible extractibilité de la cannelle est attribuée à sa richesse en lignine et en fibres, caractéristiques des écorces (Michel, 2011 ; Mohammadi, 2013). Pour la camomille, bien que riche en composés volatils, la sensibilité de ceux-ci à la chaleur et à l'oxydation limite leur récupération (Bilia et *al.*, 2014).

### III.2. Teneurs des Composés phénoliques

#### III.2.1. Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait a été exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg Eq.AG/g). Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 6 ci-dessous.



**Figure 6 :** Histogramme représentant les teneurs en polyphénols extraits par décoction aqueuse des plantes étudiées

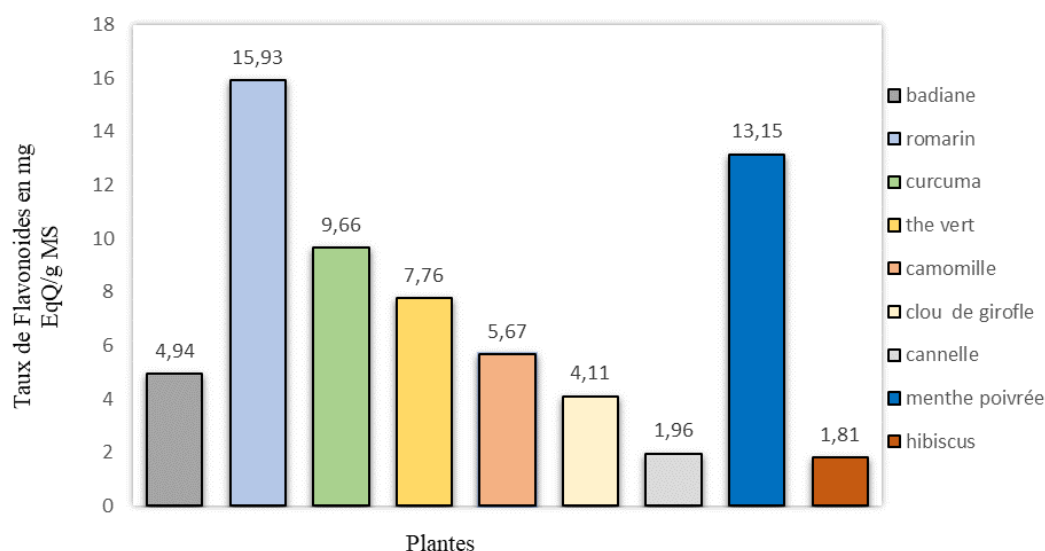
Parmi les extraits analysés, celui du romarin a présenté la plus forte teneur en composés phénoliques totaux, avec une valeur de  $60,961 \pm 1,6$  mg Eq.AG/g d'extrait sec. Ce taux élevé suggère une forte capacité antioxydante potentielle et confirme les résultats de la littérature attribuant au romarin une richesse en composés tels que l'acide rosmarinique. Ces résultats sont

bien supérieurs à ceux obtenus par Kılıç *et al.* (2017), qui, par infusion à 60 °C, ont rapporté une teneur bien plus faible ( $0,313 \pm 0,008$  mg Eq.AG/g). Cette différence pourrait être expliquée par l'utilisation de l'extraction par décoction qui permet, en raison de l'action combinée de la chaleur et de la polarité de l'eau, une meilleure libération des composés phénoliques hydrosolubles (Checkouri *et al.*, 2020 ; Oreopoulou *et al.*, 2019).

L'extrait de curcuma a montré une teneur très faible, voire négative, en polyphénols ( $<1$  mg Eq.AG/g), ce qui pourrait être dû à la faible efficacité de la décoction pour cette plante. Ces résultats contrastent fortement avec ceux rapportés par Wojdyło *et al.* (2007), qui ont obtenu une teneur de  $1,72 \pm 0,12$  mg Eq.AG/g grâce à une extraction enzymatique impliquant plusieurs enzymes ( $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -xylosidase), suivie d'une extraction au méthanol. Cette approche permet une meilleure libération des composés phénoliques liés, en particulier des aglycones, souvent non extraits par les méthodes aqueuses classiques. (Wojdyło *et al.*, 2007)

### II.2.2. Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine, et exprimée en milligrammes équivalents quercétine par gramme d'extrait sec (mgEqQ/g MS) (Figure 7).



**Figure 7 :** Histogramme représentant les différents taux de flavonoïdes extraits par décoction aqueuse des plantes étudiées

Les résultats obtenus (Figure 8) montrent que tous les extraits analysés contiennent des quantités variables de flavonoïdes totaux. L'extrait de romarin se distingue par la teneur la plus

élevée, atteignant  $15,933 \pm 1,8$  mg Eq.Q/g d'extrait sec, tandis que l'extrait d'hibiscus affiche la concentration la plus faible avec  $1,811 \pm 2,5$  mg Eq.Q/g. Ces variations peuvent s'expliquer à la fois par la composition chimique propre à chaque plante et par les conditions d'extraction utilisées.

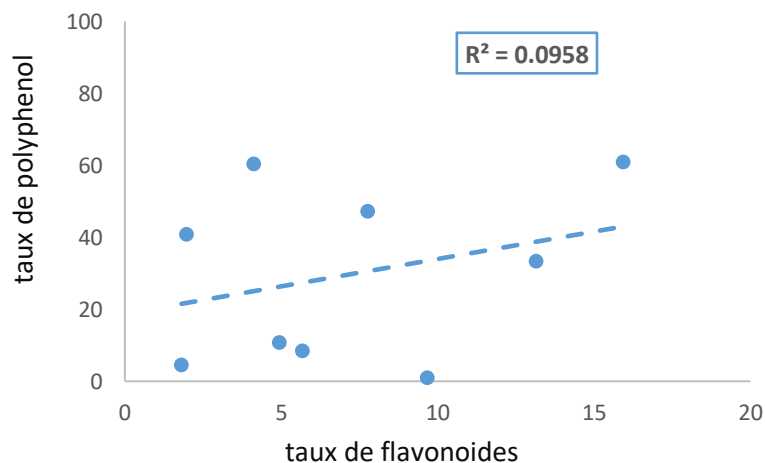
En effet, la teneur relativement élevée pour le romarin obtenue dans notre étude contraste fortement avec les résultats rapportés par Kılıç et *al.* (2017) et Kim et *al.*, (2011) qui ont respectivement trouvé des teneurs de  $0,305 \pm 0,005$  mg Eq.Q/g et  $0,269 \pm 0,0065$  mg Eq.Q/g. Cette disparité pourrait s'expliquer par la méthode d'extraction utilisée. Contrairement à l'infusion ou au reflux utilisés dans les études précédentes, notre protocole basé sur la décoction qui permet une meilleure libération des flavonoïdes hydrophiles, notamment ceux sous forme glycosylée. Cette efficacité accrue de la décoction pour les extraits aqueux est également rapportée par Checkouri et *al.* (2020). De plus, l'eau, en tant que solvant polaire, facilite l'extraction de ces composés glycosylés, fréquemment présents dans le romarin (Oreopoulou et *al.*, 2019).

En ce qui concerne l'hibiscus, la faible teneur en flavonoïdes obtenue dans notre étude ( $1,811$  mg Eq.Q/g) est largement inférieure à celles rapportées par Formagio et *al.* (2015), qui ont observé des concentrations nettement plus élevées, atteignant  $97,43 \pm 2,51$  mg Eq.Q/g pour les calices et  $140,29 \pm 3,14$  mg EQ/g pour les feuilles. Cette différence marquée peut être attribuée au choix du solvant et à la méthode d'extraction. Les auteurs ont utilisé une macération prolongée avec du méthanol, un solvant organique bien plus efficace que l'eau pour extraire les flavonoïdes aglycones et les anthocyanines, moins solubles dans l'eau. En effet, selon (Brglez Mojzer et *al.*, 2016), le méthanol est particulièrement adapté à l'extraction des polyphénols de faible poids moléculaire, alors que d'autres solvants comme l'acétone aqueuse conviennent mieux aux composés plus lourds. L'utilisation exclusive de l'eau dans notre protocole de décoction pourrait donc expliquer une sous-estimation de la teneur réelle en flavonoïdes de l'hibiscus.

### II.2.3. Analyse de corrélation TPC–TFC

L'analyse de corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux (TPC) et en flavonoïdes totaux (TFC) a mis en évidence une relation positive mais faible ( $r = 0,3$  ;  $R^2 = 0,096$ ), suggérant que les flavonoïdes ne représentent qu'une fraction limitée des composés phénoliques totaux. Cette faible corrélation s'explique par la diversité chimique des plantes analysées, dont certaines — comme le curcuma ou la cannelle — sont majoritairement composées de polyphénols non

flavonoïdiques (curcuminoïdes, cinnamaldéhyde, acide cinnamique) (Tanvir et al., 2017 ; Jaramillo Jimenez et al., 2024). Ces observations sont cohérentes avec d'autres travaux ayant rapporté une variabilité similaire dans des extraits d'origine végétale hétérogène.

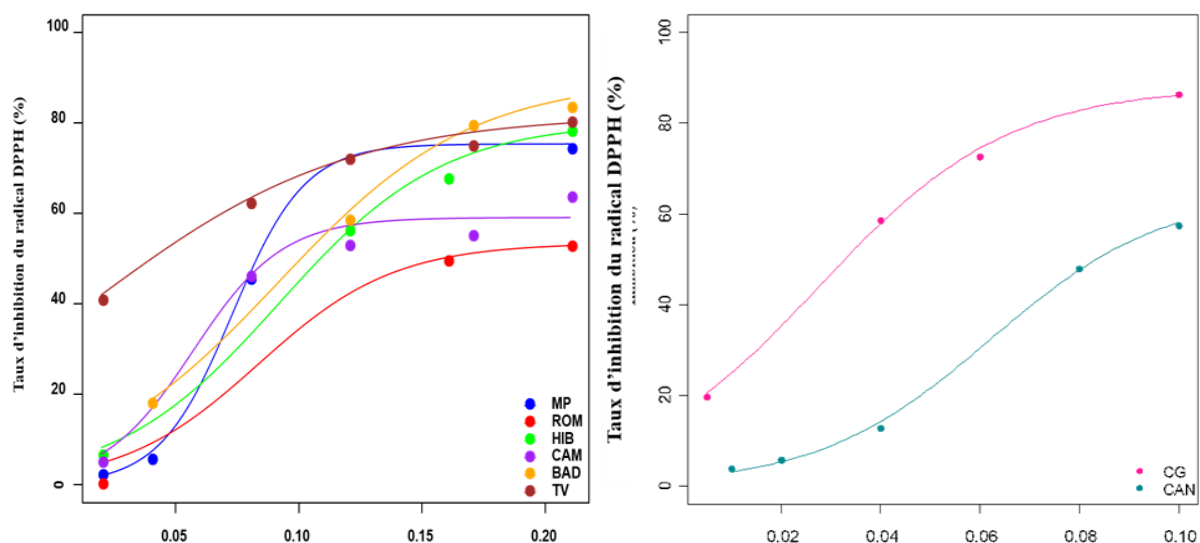


**Figure 8 :** Corrélation entre le taux flavonoïdes et le taux de polyphénols totaux

### III.3. Pouvoir antioxydants des extraits de plantes

#### III.3.1. Piégeage du radical DPPH

Les résultats relatifs aux taux de réduction du radical DPPH• à différentes concentrations des extraits aqueux des neuf plantes étudiées sont présentés dans la figure 9.



**Figure 9 :** Taux d'inhibition du radical DPPH• en fonction des concentrations des extraits aqueux des plantes étudiées. (Clou de girofle en rose, cannelle en bleu ciel, menthe poivrée en bleu, hibiscus en vert, romarin en rouge, camomille en violet, badiane en jaune et le thé vert en marron).

Les extraits aqueux des neuf plantes étudiées ont montré une activité antioxydante variable en fonction de la concentration. Une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition du radical DPPH• a été observée avec l'augmentation des concentrations des extraits, indiquant une réponse dose-dépendante.

En déterminant la concentration inhibitrice à 50 % (IC<sub>50</sub>) (tableau V). Les résultats ont montré une variation significative de l'efficacité antioxydante selon les plantes étudiées.

**Tableau V** : Activité antioxydante des extraits de plantes évaluée par la méthode DPPH• – Valeurs des IC<sub>50</sub> (µg/mL)

Plante	Thé vert	Clou de girofle	Camomille	Cannelle
IC <sub>50</sub> (µg/mL)	17,5±2.8	19,3±1.3	57,1±2.5	62,1±1,5
Plante	Badiane	Menthe poivrée	Romarin	Hibiscus
IC <sub>50</sub> (µg/mL)	70,1±1,86	73±3,39	81±1,35	92,3±0,38

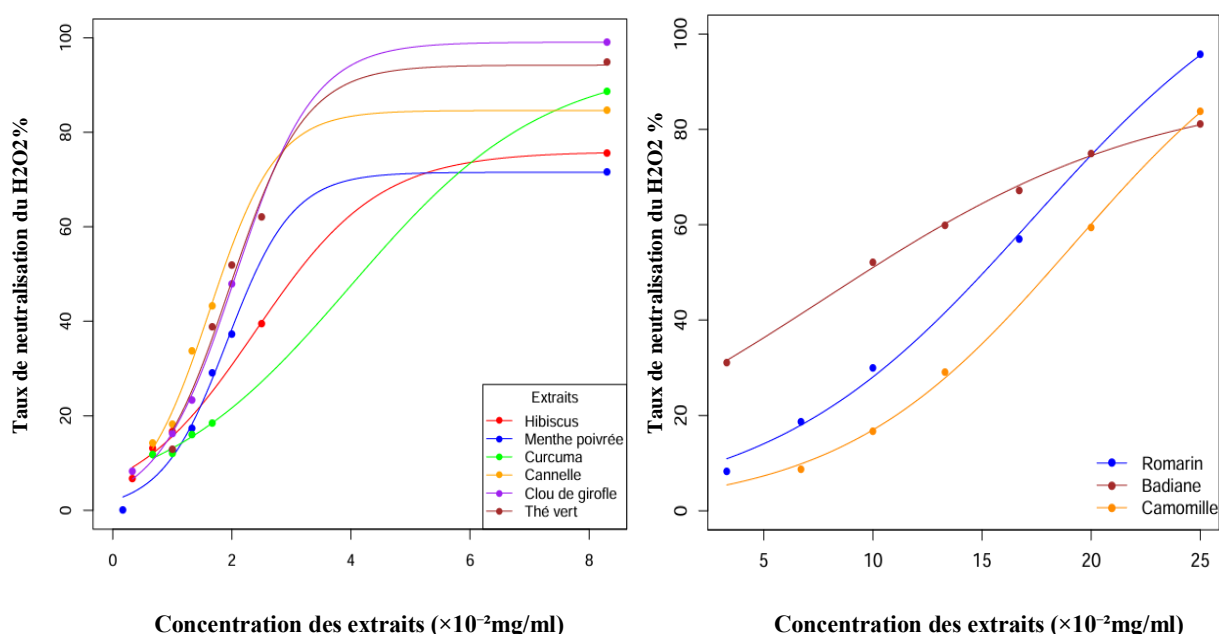
Les extraits aqueux de thé vert et de clou de girofle ont montré la plus forte activité antioxydante avec des IC<sub>50</sub> respectives de 17,5 ±2.8µg/mL et 19,3±1.3 µg/mL, bien que leur efficacité reste inférieure à celle de la quercétine (IC<sub>50</sub> =1,09 ±0,02µg/mL), flavonoïde de référence. Cette activité marquée serait liée à la présence de composés phénoliques puissants tels que l'EGCG dans le thé vert (Zhang et *al.*, 2020 ; Gramza-Michałowska, 2014) et l'eugénol dans le clou de girofle, un composé phénolique à structure allylique permettant une stabilisation efficace des radicaux libres (Güven, 2023 ; Ali et *al.*, 2018).

À l'opposé, la badiane, la menthe poivrée, le romarin et l'hibiscus ont présenté une faible activité antioxydante (IC<sub>50</sub> > 70 µg/mL), probablement en raison de la moindre réactivité de leurs composés majoritaires vis-à-vis du radical DPPH, respectivement l'anéthol (Lee et *al.*, 2013), les monoterpènes (McKay et Blumberg, 2006), les diterpènes (Borrás-Linares et *al.*, 2014), et les anthocyanes instables (Hamrita et *al.*, 2022).

Enfin, la camomille (IC<sub>50</sub> = 57,1 ±2.5µg/mL) et la cannelle (IC<sub>50</sub> = 62,1±1,5 µg/mL) ont montré une activité intermédiaire, attribuée à des composés comme l'apigénine, le bisabolol et le cinnamaldéhyde, dont le pouvoir antioxydant reste limité par rapport à celui des polyphénols fortement hydroxylés. (Firat et *al.*, 2018 ; Singh et *al.*, 2014).

### III.3.2. Neutralisation du peroxyde d'hydrogène

Le test au peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) permet d'évaluer la capacité des extraits à neutraliser cette espèce réactive de l'oxygène, bien qu'elle ne soit pas de nature radicalaire. Contrairement au test DPPH, cette méthode met en évidence les extraits capables d'interagir directement avec le  $H_2O_2$ . Les taux d'inhibition obtenus pour différentes concentrations des extraits aqueux des plantes sont présentés dans la figure 10, tandis que les valeurs d' $IC_{50}$  correspondantes sont données dans le tableau VI.



**Figure 10 :** Taux d'inhibition de neutralisation de  $H_2O_2$  en fonction de la concentration des extraits aqueux des plantes étudiées. (Clou de girofle en mauve, cannelle en jaune, menthe poivrée en bleu, hibiscus en rouge, romarin en bleu, camomille en orange, badiane en marron et le thé vert en marron, curcuma en vert)

**Tableau VI :** Activité antioxydante des extraits de plantes – Valeurs des  $IC_{50}$  ( $\mu$ g/mL) pour la neutralisation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).

Plante	Thé vert	Clou de girofle	Camomille	Cannelle	Curcuma
$IC_{50}$ ( $\mu$ g/mL)	<b>19,61<math>\pm</math>1,01</b>	<b>20,59<math>\pm</math>3,06</b>	<b>191,78<math>\pm</math>0.9</b>	<b>16,26<math>\pm</math>0,47</b>	<b>39,34<math>\pm</math>4.6</b>
Plante	Badiane	Menthe poivrée	Romarin	Hibiscus	-
$IC_{50}$ ( $\mu$ g/mL)	<b>72,39<math>\pm</math>5</b>	<b>19,19<math>\pm</math>1,04</b>	<b>172,92<math>\pm</math>3.5</b>	<b>23,98<math>\pm</math>4,29</b>	-



La cannelle a montré la meilleure efficacité pour neutraliser le peroxyde d'hydrogène, avec une  $IC_{50}$  de  $16,26 \pm 0,47 \mu\text{g/mL}$ , probablement en raison de la présence de composés tels que le cinnamaldéhyde et l'eugénol, connus pour leur capacité à réduire le  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Ranasinghe et *al.*, 2013 ; Wang et *al.*, 2009). Elle est suivie par la menthe poivrée ( $IC_{50} = 19,19 \pm 1,04 \mu\text{g/mL}$ ) et le thé vert ( $IC_{50} = 19,61 \pm 1,01 \mu\text{g/mL}$ ), riches en flavonoïdes et en acide rosmarinique, des molécules reconnues pour leur efficacité contre le peroxyde d'hydrogène (Pereira et *al.*, 2009 ; Cabrera et *al.*, 2006 ; Saeed et *al.*, 2017). Le clou de girofle ( $IC_{50} = 20,59 \pm 3,06 \mu\text{g/mL}$ ) conserve également une bonne activité antioxydante liée à sa forte teneur en eugénol (Chaieb et *al.*, 2007).

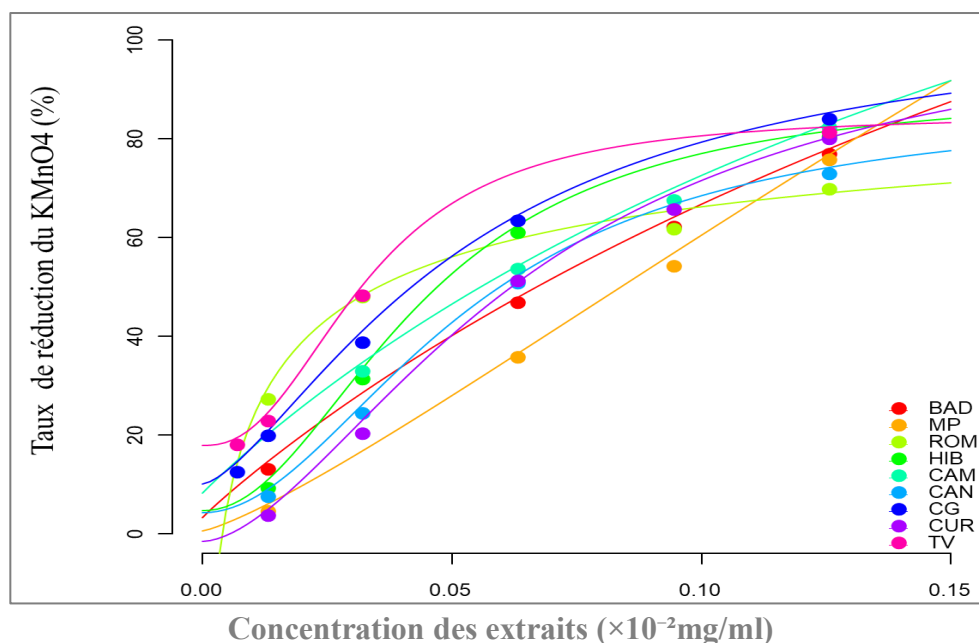
Les autres extraits affichent une activité antioxydante modérée à faible contre le peroxyde d'hydrogène. L'hibiscus ( $IC_{50} = 23,98 \pm 4,29 \mu\text{g/mL}$ ), dont les anthocyanes sont instables en milieu neutre, présente une efficacité limitée (Tseng et *al.*, 2013). Le curcuma ( $IC_{50} = 39,34 \pm 4,6 \mu\text{g/mL}$ ) montre également une activité réduite, principalement liée à la dégradation rapide de la curcumine en milieu oxydant (Priyadarsini, 2014). En bas de l'échelle, la badiane ( $72,39 \pm 5 \mu\text{g/mL}$ ), le romarin ( $172,92 \pm 3,5 \mu\text{g/mL}$ ) et la camomille ( $191,78 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ ) présentent les plus faibles capacités, dues à la faible solubilité ou à la faible réactivité chimique de leurs composés dominants, notamment les diterpènes du romarin (Zheng et Wang, 2001) et les flavonoïdes faiblement nucléophiles de la camomille (McKay et Blumberg, 2006).

A l'exception du romarin et la camomille, l'ensemble des plantes testés présentent une meilleure efficacité que la quercétine ( $IC_{50} = 100,08 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ ) bien que cette dernière soit plus active à piéger le DPPH. La quercétine est connue pour être instable en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se dégradant en composés pro-oxydants (Boots et *al.*, 2008).

### III.3.3. Pouvoir réducteur

La méthode d'évaluation de l'activité antioxydante basée sur la réduction du permanganate de potassium ( $\text{KMnO}_4$ ) est une bonne approche pour mesurer le potentiel réducteur des extraits végétaux. Une étude pertinente de Amponsah et *al.* (2016) a permis de valider scientifiquement cette méthode. Les auteurs y ont démontré que le  $\text{KMnO}_4$  est un oxydant efficace dans les tests antioxydants, réagissant avec des composés réducteurs pour produire un changement colorimétrique mesurable, traduisant le pouvoir antiradicalaire global d'un extrait.

Les taux de réduction du permanganate de potassium ( $\text{KMnO}_4$ ) des extraits testés sont représentés dans la figure 11 et les  $IC_{50}$  permettant d'évaluer l'efficacité réductrice des extraits sont données dans le tableau VII.



**Figure 11 :** Taux de réduction du KMnO<sub>4</sub> en fonction des concentrations des extraits aqueux des plantes étudiées. (Clou de girofle en bleu, cannelle en bleu ciel, menthe poivrée en jaune, hibiscus en vert, romarin en vert pomme, camomille en turquoise, badiane en rouge, le curcuma en mauve et le thé vert en rose)

**Tableau VII :** Activité antioxydante des extraits de plantes évaluée par réduction du KMnO<sub>4</sub> – Valeurs des IC<sub>50</sub> (µg/mL)

Plante	Thé vert	Clou de girofle	Camomille	Cannelle
IC <sub>50</sub> (µg/mL)	<b>66,76±1.19</b>	<b>47,65±2,92</b>	<b>72,08±0.41</b>	<b>48,39±1,83</b>
Plante	Badiane	Menthe poivrée	Romarin	Hibiscus
IC <sub>50</sub> (µg/mL)	<b>59,68±4.05</b>	<b>53,61±1.71</b>	<b>32,63±4,70</b>	<b>62,02±0.89</b>

Pour l'efficacité à réduire le KmNO<sub>4</sub>, Le romarin se distingue par une forte activité réductrice (IC<sub>50</sub> = 32,63±4,70 µg/mL), attribuée à la présence de composés phénoliques puissants tels que l'acide carnosique et le carnosol, deux diterpènes à fort pouvoir antioxydant (Nieto et *al.*, 2018). Il est suivi du clou de girofle (47,65 ±2,92µg/mL) et de la cannelle (48,39 ±1,83µg/mL), riches respectivement en eugénol et cinnamaldéhyde, aux propriétés réductrices bien établies (Ben Hsouna et *al.*, 2023 ; Singh et *al.*, 2007). La menthe poivrée (53,61 ±1.71µg/mL) et la badiane (59,68±4.05 µg/mL) présentent une activité intermédiaire, probablement liée à la présence de monoterpènes et de phénoliques faiblement réducteurs.

L'hibiscus (62,02 ±0.89µg/mL) et le thé vert (66,76±1.19 µg/mL), bien que performants dans d'autres tests antioxydants, montrent ici une efficacité modérée, suggérant un mécanisme

d'action plus orienté vers le piégeage des radicaux que la réduction directe du fer (Panche et *al.*, 2016 ; Hamrita et *al.*, 2022). Enfin, la camomille affiche la plus faible activité ( $IC_{50} = 72,08 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$ ), en cohérence avec ses résultats dans les autres modèles d'évaluation (Firat et *al.*, 2018).

Cependant, tous les extraits se révèlent moins efficaces que la quercétine pour réduire le permanganate de potassium ( $IC_{50} = 13,29 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ ). Cette efficacité élevée s'explique par la présence des groupements hydroxyles, en particulier les fonctions 3',4'-diOH sur l'anneau B de la quercétine, qui facilitent le don d'électrons (Panche et *al.*, 2016).

### III.4. Corrélations entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante

Une analyse de corrélation a été effectuée afin d'explorer la relation entre la teneur en composés phénoliques des extraits et leur activité antioxydante, évaluée à travers trois tests : piégeage du radical DPPH•, neutralisation du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et pouvoir réducteur vis-à-vis du  $\text{KMnO}_4$ . Cette démarche permet de mieux comprendre l'influence des composés phénoliques sur l'efficacité antioxydante selon différents mécanismes (don d'hydrogène, piégeage des espèces réactives, transfert d'électrons)

L'analyse de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques totaux ou flavonoïques et les différentes activités antioxydantes (piégeage du radical DPPH•, neutralisation du  $\text{H}_2\text{O}_2$  et pouvoir réducteur vis-à-vis du  $\text{KMnO}_4$ ) a révélé des relations de force variable selon les mécanismes d'action impliqués (Tableau VIII)

**Tableau VIII :** Coefficients de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits végétaux.

Activité antioxydante	Teneurs en phénols totaux (r)	Teneurs en flavonoïdes (r)
Piégeage du radical DPPH•	-0,52	0,15
Neutralisation du $\text{H}_2\text{O}_2$	-0,00	0,36
Réduction du permanganate de potassium ( $\text{KMnO}_4$ )	-0,70	-0,30

L'analyse des corrélations entre les teneurs en composés phénoliques et flavonoïques et les différentes activités antioxydantes révèle des liens variables selon le mécanisme impliqué.

Une corrélation négative modérée ( $r = -0,52$ ) a été observée entre les polyphénols totaux (TPC) et l'activité de piégeage du radical DPPH•, suggérant qu'une teneur plus élevée en composés phénoliques est globalement associée à une meilleure efficacité antiradicalaire. En revanche, la corrélation avec les flavonoïdes est faible ( $r = 0,15$ ), ce qui indique que d'autres familles de composés phénoliques, comme le cinnamaldéhyde, l'acide cinnamique ou encore l'acide rosmarinique, pourraient jouer un rôle prépondérant dans cette activité (Jaramillo Jimenez et al., 2024 ; Brglez Mojzer et al., 2016). Ces résultats soulignent que la qualité des composés phénoliques prime sur leur quantité globale en matière d'activité antiradicalaire.

Concernant la neutralisation du  $H_2O_2$ , aucune corrélation significative n'a été relevée avec les polyphénols totaux ( $r = -0,00$ ), tandis qu'une corrélation faible et positive a été notée avec les flavonoïdes ( $r = 0,36$ ). Cela suggère une implication possible de certains flavonoïdes spécifiques, mais sans contribution majeure de l'ensemble des composés phénoliques. Cette absence de lien marqué pourrait être due à la nature structurale des molécules impliquées ou à l'intervention de molécules bioactives non quantifiées.

En revanche, l'activité réductrice vis-à-vis du permanganate de potassium ( $KMnO_4$ ) montre une corrélation négative forte avec les polyphénols totaux ( $r = -0,70$ ), indiquant un lien direct entre la richesse en phénols et la capacité de transfert d'électrons. La corrélation avec les flavonoïdes, bien que toujours négative, est plus modérée ( $r = -0,30$ ), suggérant une contribution secondaire de ces composés dans ce mécanisme.

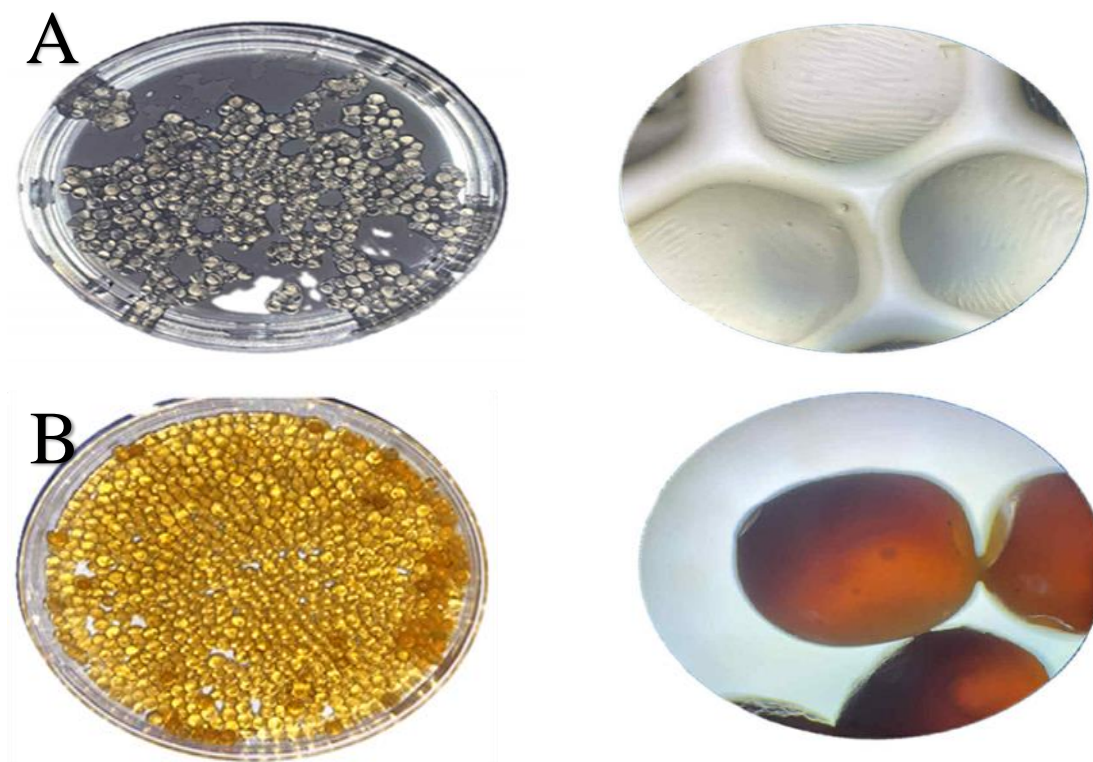
Globalement, ces résultats mettent en évidence que l'activité antioxydante des extraits végétaux dépend non seulement de la quantité totale de composés phénoliques, mais surtout de leur nature chimique et de leur affinité pour les différents mécanismes d'action antioxydants.

### **III.5. Rendement et Activité antioxydante de l'extrait de menthe poivrée encapsulé**

#### **III.5.1. Observation morphologique des capsules**

Les capsules obtenues par gélification ionique à base d'alginate de sodium et de chlorure de calcium ont été observées afin d'évaluer l'effet de l'incorporation de l'extrait aqueux de menthe

poivrée (*Mentha piperita*) sur leur morphologie. L'analyse a été réalisée à l'œil nu pour l'observation macroscopique, ainsi qu'au microscope optique à un grossissement de 40 pour l'observation microscopique. (Figure 12)



**Figure 12 :** Observation macroscopique et microscopique des capsules d'alginate avec et sans extrait de menthe poivrée ; (A) à gauche : capsules vides (sans flavonoïdes) observées à l'œil nu ; à droite : microcapsules vides visualisées au microscope optique ( $\times 40$ ). (B) à gauche : capsules contenant des flavonoïdes extraits de menthe poivrée (*Mentha piperita*) ; à droite : microcapsules après séchage, observées au microscope optique ( $\times 40$ )

Pour les capsules vides, l'observation à l'œil nu montre des sphères translucides, bien formées, de couleur claire et d'aspect homogène et au microscope optique ( $\times 40$ ), elle révèle une structure lisse, uniforme, sans inclusion apparente.

Pour les capsules renfermant l'extrait de menthe poivrée (*Mentha piperita*). À l'œil nu, on note une coloration jaune-brunâtre, indiquant la présence de composés bioactifs dans la matrice d'alginate. Les sphères conservent une forme sphérique mais présentent un aspect légèrement plus irrégulier. L'observation microscopique au grossissement  $\times 40$  montre une structure interne plus dense et légèrement granuleuse, traduisant une répartition des composés

flavonoïdes dans la capsule. Après séchage, la texture semble plus compacte, avec des contours parfois légèrement déformés.

### III.5.2. Rendement d'encapsulation

Le rendement d'encapsulation de l'extrait aqueux de menthe poivrée (*Mentha piperita*) a été estimé à partir des quantités de polyphénols totaux et de flavonoïdes encapsulés, puis libérés à l'aide de deux méthodes distinctes : la diffusion passive et la sonication. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IX ci-après.

**Tableau IX :** Rendement d'encapsulation des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les capsules d'alginate de sodium selon deux méthodes de libération.

Paramètre évalué	Sonication	Diffusion simple
Rendement en polyphénols encapsulés (%)	92,64 %	86,81 %
Rendement en flavonoïdes encapsulés (%)	56,82 %	40,00 %

Les résultats présentés dans le Tableau II indiquent que la méthode de sonication permet une libération plus efficace des composés bioactifs encapsulés dans les capsules d'alginate de sodium, comparée à la diffusion simple. En effet, des rendements de 92,64 % pour les polyphénols et de 56,82 % pour les flavonoïdes ont été obtenus avec la sonication, contre respectivement 86,81 % et 40,00 % avec la diffusion.

Cette supériorité de la sonication peut être attribuée à l'effet de cavitation généré par les ultrasons. Ce phénomène physique provoque la formation et l'implosion de microbulles dans le milieu, créant ainsi des zones de forte pression et de température élevée localisées. Cette action mécanique favorise la rupture partielle de la matrice d'alginate, facilitant ainsi la libération rapide et efficace des composés encapsulés (Akpabli-Tsigbe et *al.*, 2021).

Par ailleurs, l'énergie ultrasonique améliore particulièrement la libération des flavonoïdes sous forme aglycone, dont l'activité antioxydante plus marquée. Ces formes sont donc plus facilement extraites sous l'effet des ultrasons (Yuan et *al.*, 2022). En revanche, la diffusion passive, méthode plus douce, agit lentement et permet surtout la libération des molécules de faible poids moléculaire, hydrosolubles, comme certains glycosides. Les composés plus lourds ou moins solubles, tels que les aglycones ou les polymères polyphénoliques, peuvent quant à eux rester partiellement piégés dans la matrice d'encapsulation (Pulicharla et *al.*, 2016).

La comparaison entre la sonication et la diffusion passive met en évidence deux approches de libération aux profils complémentaires. La sonication permet une libération rapide et homogène des composés, notamment des flavonoïdes, grâce à l'effet de cavitation, mais nécessite un contrôle précis pour éviter la dégradation thermique (Chemat et al., 2011). En revanche, la diffusion passive, plus lente, préserve mieux l'intégrité des molécules sensibles et convient aux formulations à libération prolongée. Le choix de la méthode dépend donc des objectifs de libération et de la stabilité souhaitée des composés (Nedović et al., 2011).

### III.5.3. Pouvoir antioxydants de l'extrait encapsulé

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux de menthe poivrée encapsulé par gélification ionique dans de l'alginate de sodium a été évaluée à travers trois tests (DPPH•, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et KMnO<sub>4</sub>). Les résultats (Tableau X) montrent que la méthode de libération influence la disponibilité des composés bioactifs. En effet, la sonication permet une meilleure libération des flavonoïdes (4,21 µg/mL) par rapport à la diffusion passive (3,13 µg/mL), tandis que la teneur en polyphénols totaux reste stable (34,73 µg/mL) dans les deux cas. Ces données suggèrent que la sonication améliore l'extraction des flavonoïdes, sans altérer la quantité globale de polyphénols, ce qui peut avoir un impact direct sur l'efficacité antioxydante des extraits encapsulés.

**Tableau X :** Efficacité antioxydants de l'extrait aqueux de menthe poivrée (*Mentha piperita*) encapsulé dans l'alginate de sodium et libéré par diffusion passive ou par sonication.

	Extrait libéré par diffusion passive	Extrait libéré par sonication
Taux d'inhibition DPPH (%)	52,66 %	71,40 %
Taux de neutralisation du H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)	84,31 %	63,29 %
Taux de réduction du KMnO <sub>4</sub> (%)	72,45 %	58,13 %

L'extrait de *Mentha piperita* libéré par sonication présente une meilleure capacité de piégeage du radical DPPH• (71,40 %) comparée à la diffusion passive (52,66 %), en raison d'une libération plus importante de flavonoïdes aglycones, fortement antioxydants. L'effet de cavitation ultrasonique facilite la rupture de la matrice d'alginate, optimisant la diffusion de ces composés actifs (Yuan et al., 2022). Cependant, les flavonoïdes libres sont vulnérables à l'oxydation prématurée, ce qui peut limiter leur efficacité. L'encapsulation protège ces molécules sensibles, assurant une libération contrôlée et localisée, tout en préservant leurs groupes fonctionnels essentiels, renforçant ainsi leur efficacité antiradicalaire (Boots et al., 2008 ; López-Rubio et al., 2012).

Contrairement à la sonication, la diffusion passive permet une meilleure neutralisation du peroxyde d'hydrogène (84,31 % contre 63,29 %), grâce à une préservation accrue des composés sensibles comme les glycosides flavonoïdiques et certains polyphénols hydrophiles. Ces molécules, libérées progressivement dans des conditions douces, conservent leur intégrité et leur efficacité face au H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, un oxydant puissant pouvant dégrader rapidement les flavonoïdes libres (Galati & O'Brien, 2004). L'encapsulation protège ces antioxydants jusqu'à leur libération, tandis que la libération lente et la microviscosité des capsules limitent les réactions secondaires indésirables, assurant ainsi une activité antioxydante prolongée (Gibbs et al., 1999).

Le test de réduction du permanganate de potassium (KMnO<sub>4</sub>) a montré une meilleure activité réductrice de l'extrait de *Mentha piperita* libéré par diffusion passive (72,45 %) par rapport à la sonication (58,13 %). Cette différence s'explique par une libération plus progressive et structurale-ment préservée des polyphénols, dont les cycles aromatiques et doubles liaisons, essentiels au transfert d'électrons, sont mieux protégés lors de l'encapsulation (Nieto et al., 2018). En revanche, la sonication, bien qu'efficace pour une libération rapide, peut altérer la structure des composés sensibles, réduisant leur pouvoir réducteur. En conclusion, la sonication est adaptée aux actions antioxydantes immédiates (comme le DPPH•), tandis que la diffusion passive convient mieux à des mécanismes lents nécessitant une stabilité accrue des composés, comme ceux impliqués dans les tests H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et KMnO<sub>4</sub>.



Ce travail avait pour objectif d'évaluer les rendements d'extraction, la composition phénolique, ainsi que les capacités antioxydantes de neuf plantes médicinales et aromatiques extraites par décoction aqueuse, avec un accent particulier sur l'encapsulation de l'extrait de *Mentha piperita* par gélification ionique.

Les résultats ont révélé une forte variabilité des rendements d'extraction (de 4,60 % à 52,12 %), influencée par la nature des organes végétaux. Le thé vert, le clou de girofle et la menthe poivrée ont montré les meilleurs rendements. La composition en polyphénols et flavonoïdes différait selon les espèces, avec un profil particulièrement riche chez le romarin. Les tests antioxydants (DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KMnO<sub>4</sub>) ont mis en évidence des profils d'activité contrastés, en lien avec la diversité chimique des extraits. L'encapsulation de la menthe poivrée a démontré son efficacité pour la protection et la libération contrôlée des composés bioactifs.

Ces résultats confirment que les plantes médicinales sont une source précieuse de composés antioxydants. L'amélioration observée après encapsulation suggère que cette technologie protège les composés sensibles, améliore leur stabilité, et permet une libération contrôlée, renforçant ainsi leur efficacité biologique potentielle.

L'étude ne prend pas encore en compte la cinétique de libération des composés encapsulés ni l'impact de facteurs environnementaux (pH, température) sur la stabilité des capsules. De plus, une seule plante a été encapsulée, ce qui limite la portée des résultats à ce stade.

À court terme, il serait pertinent d'optimiser les paramètres d'encapsulation, notamment le rapport alginate/extrait et les conditions de libération. À plus long terme, les résultats ouvrent la voie au développement d'un spray buccal à base d'extrait de *Mentha piperita* encapsulé, destiné à soulager les maux de gorge liés à des infections virales saisonnières. Ce produit pourrait combiner des effets anti-inflammatoires, antioxydants et antimicrobiens pour une action locale ciblée sur les muqueuses oropharyngées.

- Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2007;595:1-75.
- Akpabli-Tsigbe NDK, Ma Y, Ekumah JN, Osabutey J, Hu J, Xu M, Johnson NAN, Mintah BK. Ultrasonique-extraction assistée d'acide chlorogénique bioactif de la variété de soja heilong48 : Optimisation paramétrique et évaluation des propriétés physico-chimiques et bioactives. *Food Science & Nutrition* .2021; 9(12):6830-6843.
- Alarcón de la Lastra C, Martín MJ, Motilva V, Jiménez M. Antiulcerogenicity of the flavonoid fraction from *Bidens pilosa* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 1994;42:161-7.
- Ali BH, Wabel NA, Blunden G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytotherapy Research*. 2005;19:369-75.
- Ali SS, Hossain MM, Karmakar UK, Alam S, Hossain M, Hossain MK, Rahman MA. Eugenol: A natural compound with versatile pharmacological activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* .2018;8:124-32.
- Ameer K, Shahbaz HM, Kwon JH. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.2017;16:295-315.
- Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Medica*. 1991;57:1-7.
- Amponsah IK, Annan K, Addai FK, Asare C, Appiah-Opong R. Development and validation of a radical scavenging antioxidant assay using potassium permanganate. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.2016;7:1434-9.
- Amponsah IK, Otuo-Acheampong C, Kuntworbe N, Osei-Safo D, Fleischer TC. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and ethanolic extracts of *Cyathula prostrata* (L.) Blume leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2016;7:493-500.
- Ayoola GA, Coker HAB, Adesegun SA, Adepoju-Bello AA, Obaweya K, Ezennia EC, Atangbayila TO. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2008; 7:1019-24.
- Balentine DA, Wiseman SA, Bouwens LC. The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1997;37:693-704.
- Békro YA, Békro JA, Boua BB, Tra Bi FH, Ehilé EE. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana*. *Sciences & Nature*. 2007;4:217-25.
- Ben Hsouna A, Dhifi W, Saoudi M, Mbarki S, Jamoussi B. Chemical composition and antioxidant potential of clove essential oil. *Industrial Crops and Products*. 2023;186:116134.
- Bilia AR, Guccione C, Isacchi B, Righeschi C, Firenzuoli F, Bergonzi MC. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014:651593.
- Bonnaillie LM, Savard M, LaPointe G, Tompkins TA. Extraction and characterization of phenolic compounds from apple pomace. *Journal of Food Science*. 2012;77:C800-6.
- Boots AW, Haenen GRMM, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*. 2008;585:325-37.
- Borrás-Linares I, Stojanovic Z, Quirantes-Piné R, Arráez-Román D, Švarc-Gajić J, Fernández-Gutiérrez A, Segura-Carretero A. *Rosmarinus officinalis* leaves as a natural source of bioactive compounds. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014;15:20585-606.
- Brglez Mojzer E, Knez Hrnčić M, Škerget M, Knez Ž, Bren U. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. 2016;21:901-148.

## Références Bibliographiques

- Cabrera C, Artacho R, Giménez R. Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition*. 2006;25:79-99.
- Carré J. Progrès réalisés dans l'extraction des principes actifs végétaux. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique* 1953;35:1107-20.
- Chai F, Vauthier C, Huang N, Dou H, Xia H, Liu D, Zhou J, Zhao M, Xiao Y, Yang L. Physicochemical and biological properties of chitosan–alginate nanoparticles loaded with anti-tuberculosis drugs. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2004;34:157-63.
- Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakhrouf A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil. *Phytotherapy Research*. 2007;21:501-6.
- Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakhrouf A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L.). *Infectious Disorders - Drug Targets*. 2007;7:67-75.
- Chavane L, Tressaud A, Boucher E. Extraction des principes actifs végétaux : techniques classiques et nouvelles technologies. *Phytothérapie*. 2001;1:113-20.
- Checkouri E, Reignier F, Robert-Da Silva C, Meilhac O. Evaluation of polyphenol content and antioxidant capacity of aqueous extracts from eight medicinal plants from Reunion Island: protection against oxidative stress in red blood cells and preadipocytes. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(10):959.
- Chemat F, Zill e Huma, Khan MK. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2011;18:813-35.
- Cheynier V. Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochemistry Reviews*. 2012;11(2–3):153–177.
- Choudhury N, Meghwal M, Das K. Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*. 2021;2:426-42.
- Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005; 26:343-56.
- Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. *Hibiscus sabdariffa* L. – a phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*. 2014;165:424-43.
- Deng S, West BJ, Jensen CJ. A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. *Food Chemistry*. 2010;122:267-70.
- Dias MI, Ferreira ICFR, Barreiro MF. Microencapsulation of plant extracts: a review of techniques, applications and future trends. *Phytochemical Reviews*. 2016;15:103-22.
- El-Haci IA, Bekkara FA, Kadiata M. Evaluation de l'activité antioxydante d'extraits de trois plantes médicinales : *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula stoechas* et *Peganum harmala*. *Phytothérapie*. 2014;12:24-31.
- Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*. 2003; 108-15.
- Firat M, Elmastaş M, Erenler R. Evaluation of antioxidant and anticholinesterase activities of *Matricaria chamomilla* L. extracts. *International Journal of Food Properties*. 2018; 21:771-84.
- Formagio ASN, Ramos DD, Vieira MC, Ramalho SR, Silva MM, Zárata NAH, Foglio MA, Carvalho JE. Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. *Brazilian Journal of Biology*. 2015;75:69-76.
- Galati G, O'Brien PJ. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;37:287-303.

## Références Bibliographiques

- Gibbs BF, Alli I, Mulligan CN. Flavonoid–protein interactions: binding of quercetin-3-glucoside and quercetin to soy  $\beta$ -conglycinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .1999;47:4921-7.
- Goudable J, Favier A. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 1997;11:115-20.
- Gramza-Michałowska A. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in the human diet. *Nutrients*. 2014;6:431-52.
- Gruenwald J, Freder J, Armbruester N. Cinnamon and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2010;50:822-34.
- Guardia T, Rotelli AE, Juarez AO, Pelzer LE. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. 2001;56:683-7.
- Güven K. Antioxidant capacity and radical scavenging activity of essential oils from clove (*Syzygium aromaticum*). *Journal of Essential Oil Research*. 2023;35:88-96.
- Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, Pramodh S, Alsulimani A, Alkhanani MF, Harakeh S, Hussain A, Haque S, Reshi MS. Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells* .2022;11:552.
- Hamrita S, Ben Amor S, Mahjoub A. Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. in human health: an updated review. *Journal of Food Biochemistry*. 2022;46:e14204.
- Hänsel R, Sticher O. *Pharmakognosie - Phytopharmazie*. Berlin: Springer Verlag. 2004:310.
- Harborne JB. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman & Hall. 1973:45.
- Hopkins AL, Lamm MG, Funk JL, Ritenbaugh C. *Hibiscus sabdariffa* L. in the treatment of hypertension and hyperlipidemia: a comprehensive review of animal and human studies. *Fitoterapia*.2013;85:84-104.
- Jaramillo Jimenez BA, Awwad F, Desgagné-Penix I. Cinnamaldehyde in focus: Antimicrobial properties, biosynthetic pathway, and industrial applications. *Antibiotics*. 2024;13:1095.
- Kalušević A, Lević S, Petrović L, Pavlović V, Pantić M, Nedović V. Characterization and stability of spray-dried peppermint extract microencapsulated with maltodextrin and gum arabic. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2016;22:291-8.
- Kamatou GP, Vermaak I, Viljoen AM. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry*. 2013;96:15-25.
- Kawai M, Hirano T, Higa S, Arimitsu J, Maruta M, Kuwahara Y, Tanaka T, Ohkawara T, Shima Y, Ogawa H. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. *Allergology International*. 2008;57:113-23.
- Khanna R, MacDonald JK, Levesque BG. Peppermint oil for the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2014;48:505-12.
- Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*. 2013;18:2328-75.
- Kiliç C, Can Z, Yilmaz A, Yildiz S, Turna H. Antioxidant properties of some herbal teas (green tea, senna, corn silk, rosemary) brewed at different temperatures. *International Journal of Secondary Metabolite*. 2017;4:142.
- Kim IS, Yang MR, Lee OH, Kang SN. Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12:4120-31.
- Koffi K, Sea T, Soro S, Amoikon KE, Djaman AJ, Guédé-Guina F. Etude comparative de l'activité antimicrobienne de quelques extraits de plantes médicinales de Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*. 2010;7:39-46

## Références Bibliographiques

- Lee SC, Yang JJ, Lee SJ, Kim KJ, Kang SS. Antioxidant activities of star anise (*Illicium verum* Hook. f.) essential oil and its major constituents. *Journal of Food Science*. 2013;78:C1245-9.
- Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging* .2018;13:757-72.
- López-Rubio A, Gavara R, Lagaron JM. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science & Technology*. 2012;24:37-48.
- Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C. *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolisme secondaire*. Paris: Lavoisier. 2005:112.
- Mahmoudi R, Cherif JK, Marouf A, Djaziri R, Boucherit Z, Sekkal FZ. Extraction des polyphénols à partir de feuilles de *Myrtus communis* L. *Acta Botanica Gallica* .2013;160:99-106.
- Majhenic L, Škerget M, Knez Ž. Optimization of extraction of active components from green tea (*Camellia sinensis*). *Food Chemistry*. 2007;100:881-8.
- McKay DL, Blumberg JB. The role of tea in human health: an update. *Journal of the American College of Nutrition*.2006;25:79-99.
- Michel T. *Phytothérapie et plantes médicinales*. Paris: Doin.2011:55.
- Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*.2000;52:673-751.
- Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences (Paris)*. 2011;27:405-12.
- Mohammedi Z. Extraction des polyphénols de *Vitis vinifera*. *Phytothérapie*. 2013;11:24-31.
- Munin A, Edwards-Lévy F. Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics* .2011;3:793-829.
- Nedović V, Kalusevic A, Manojlović V, Levic S, Bugarski B. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*. 2011;1:1806-15.
- Nieto G, Ros G, Castillo J. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): a review. *Medicines (Basel)* .2018;5:98.
- Oreopoulou A, Tsimogiannis D, Oreopoulou V. Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: An overview of the methods and the effect of extraction parameters. In: Watson RR, ed. *Polyphenols in plants*. Cambridge: Elsevier. 2019:243-59.
- Ozkan G, Ceyhan T, Çatalkaya G, Rajan L, Ullah H, Daglia M, Capanoglu E. Encapsulated phenolic compounds: Clinical efficacy of a novel delivery method. *Phytochemical Reviews*. 2024;23:781-819.
- Ozkan G, Franco P, De Marco I, Xiao J, Capanoglu E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*. 2019;272:494-506.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*.2016;5:e47.
- Pereira RP, Fachineto R, de Souza Prestes A, Puntel RL, Santos da Silva GN, Heinzmann BM, Boschetti TK, Athayde ML, Bürger ME, Moreira JC, Morsch VM, Schetinger MR. Protective effects of organic and conventional yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage and antioxidant activity. *Mutation Research*. 2009;661:1-9.
- Perry EK, Pickering AT, Wang WW, Houghton PJ, Perry NS. Medicinal plants and Alzheimer's disease: from ethnobotany to phytotherapy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.1999;51:527-34.

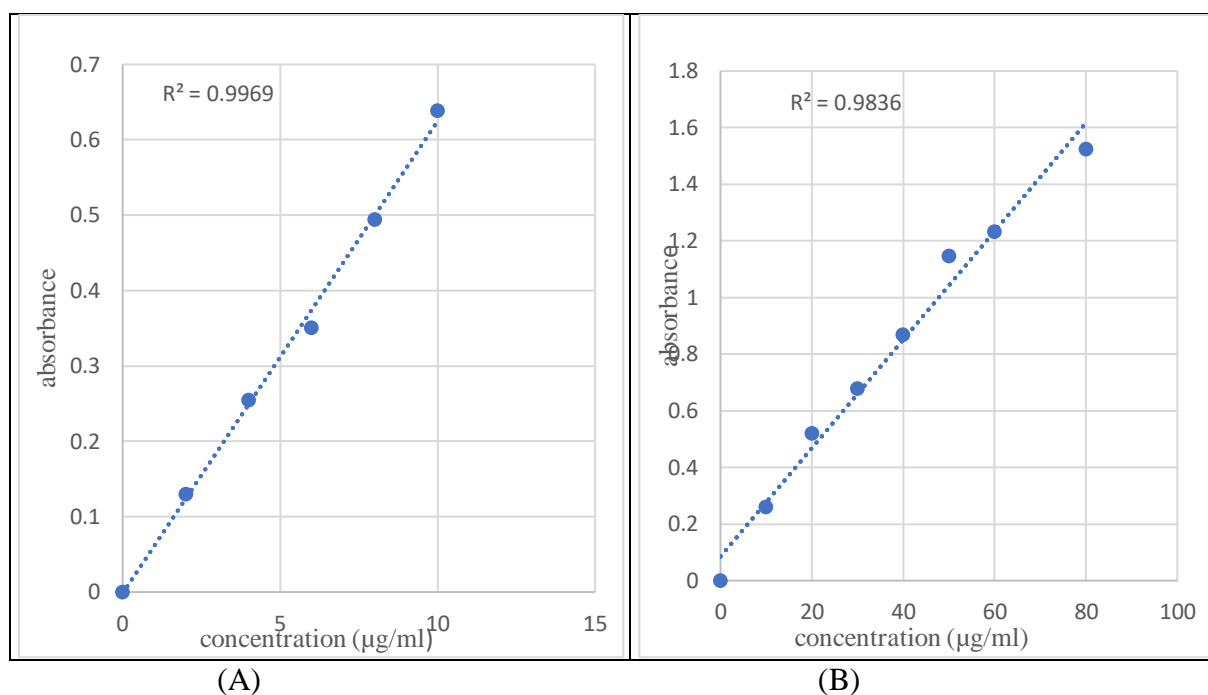
## Références Bibliographiques

- Perva-Uzunalic A, Škerget M, Knez Ž, Weinreich B, Otto F, Grüner S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*. 2006;96:597-605.
- Pisoschi AM, Pop A, Iordache F, Stanca L, Predoi G, Serban AI. Oxidative stress mitigation by antioxidants – an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*.2021;209:112891.
- Popovici C, Saykova I, Tylkowski B. Evaluation of antioxidant activity of phenolic compounds by chemiluminescence. *Current Analytical Chemistry* .2009;5:289-99.
- Prasad S, Gupta SC, Tyagi AK, Aggarwal BB. Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back. *Biotechnology Advances* .2014;32:1053-64.
- Prashar A, Locke IC, Evans CS. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation*. 2006;39:241-8.
- Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*.2014;19:20091-112.
- Pulicharla R, Marques C, Das RK, Rouissi T, Brar SK. Études d'encapsulation et de libération de polyphénols de fraise dans une nanoformulation de chitosane biodégradable. *International Journal of Biological Macromolecules*.2016;88:171-8.
- Ranasinghe P, Pigera S, Premakumara GA, Galappaththy P, Constantine GR, Katulanda P. Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013;13:275.
- Rani R, Karmakar P, Singh N, Mandal R. Encapsulation methods in the food industry: mechanisms and applications. In: Goyal MR, Veena N, Watharkar RB, eds. *Advances in food process engineering: Novel processing, preservation, and decontamination of foods*. Boca Raton: Apple Academic Press.2023:93-130.
- Saeed N, Khan MR, Shabbir M. Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*.2017;11:142-6.
- Şahin K, Orhan C, Tuzcu M, Sahin N, Kucuk O. The effects of tomato powder supplementation on antioxidant enzyme activity in quail. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.2004;88:10-6.
- Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53:7749-59.
- Singh G, Maurya S, de Lampasona MP, Catalan CAN. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Cinnamomum cassia*. *Food and Chemical Toxicology*.2007;45:1650-61.
- Singh O, Khanam Z, Misra N, Srivastava MK. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy Reviews*.2011;5:82-95.
- Singh P, Shukla R, Prakash B, Kumar A, Singh S, Mishra PK, Dubey NK. Antioxidant and antimicrobial properties of *Cinnamomum cassia* essential oil. *Journal of Food Science and Technology*.2014;51:434-9.
- Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965;16:144-58.
- Sobti S, Kaur IP, Singh B. Stability enhancement of peppermint polyphenols using W1/O/W2 double emulsion prepared with plant proteins: implications for functional foods. *Journal of Food Science and Technology*.2023;60:3635-44.
- Sokovic M, Glamoclija J, Marin PD, Brkic D, van Griensven LJ. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules* 2009;15:7532-46.
- Sousek J, Simanek V, Krejci P. Spectrophotometric determination of total phenolics using Folin-Ciocalteu reagent. *Chemické Listy*. 1999;93:282-7.

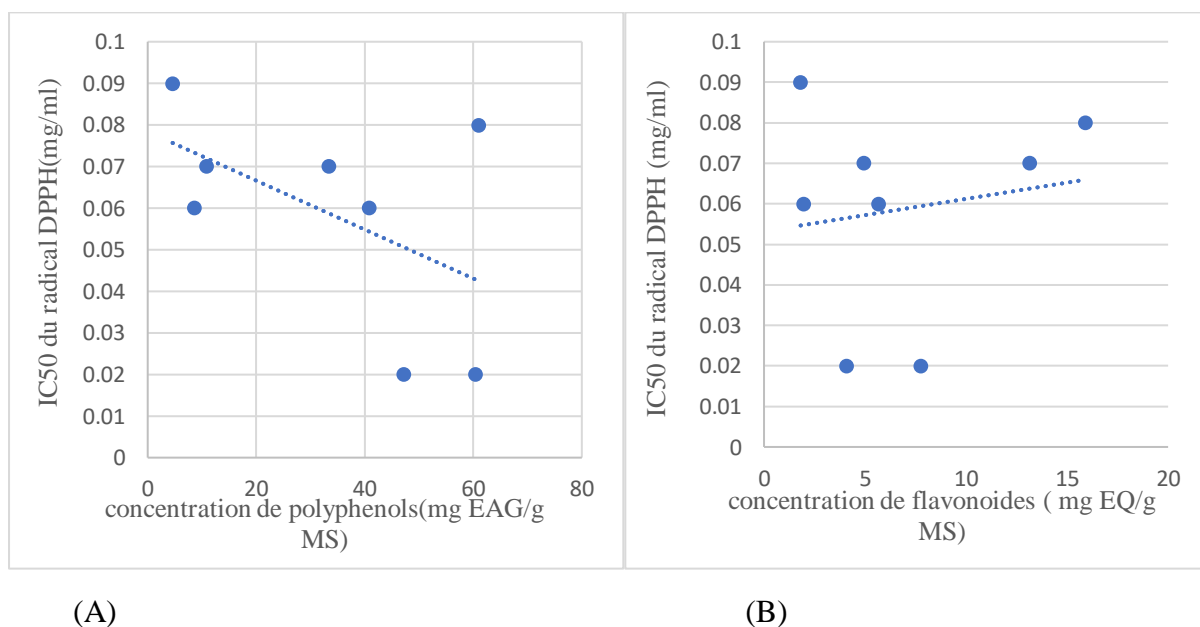
## Références Bibliographiques

- Tanvir EM, Hossen MS, Hossain MF, Afroz R, Gan SH, Khalil MI, Karim N. Antioxidant properties of popular turmeric (*Curcuma longa*) varieties from Bangladesh. *Journal of Food Quality* .2017;8471785.
- Tseng TH, Kao ES, Chu CY, Chou FP, Lin Wu H, Wang CJ. Hibiscus sabdariffa extract reduces renal oxidative stress and inflammation in hypertensive rats. *Journal of Hypertension*.2013;31:541-9.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 2006;160:1-40.
- Wang GW, Hu WT, Huang BK, Qin LP. *Illicium verum*: a review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;136:10-20.
- Wang H, Provan GJ, Helliwell K. Antioxidant capacity of cinnamaldehyde: a potent component of cinnamon. *Food and Chemical Toxicology*. 2009;47:2732-7.
- Wardhani DH, Aryanti N, Aziz A, Firdhaus RA, Ulya HN. Ultrasonic degradation of alginate: A matrix for iron encapsulation using gelation. *Food Bioscience*. 2021;41:100803.
- Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine*.2004;36:838-49.
- Wojdyło A, Oszmiański J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 2007;105:940-9.
- Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomás-Barberán FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2004;59:113-22.
- Yarmohammadi Barbarestani M, Motamedzadegan A, Taghipoor A, Shahidi F. Microencapsulation of peppermint extract by ionic gelation using alginate-CaCl<sub>2</sub>: release characteristics and antioxidant activity. *Journal of Food Processing and Preservation*.2017;41:e13180.
- Yuan T, Huang J, Gan L, Chen L, Zhong J, Liu Z, et al. Ultrasonic enhancement of aqueous two-phase extraction and acid hydrolysis of flavonoids from *Malvaviscus arboreus* Cav. flower for evaluation of antioxidant activity. *Antioxidants*. 2022;11(10):2039.
- Zhang L, Zheng Y, Deng Y, Li J, Li L, Tian J, Wang X, Liang H, Zhang S. Antioxidant properties of green tea catechins: a mechanistic insight. *Food & Function*.2020;11:9372-91.
- Zheng CJ, Qin LP. Chemical components of *Illicium verum* and their antibacterial activity.1992;15:7558-69.
- Zheng SL, Wang SS. Studies on phenolic compounds and antioxidative activities of star anise. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*.2001;26:582-5.

## ANNEXES

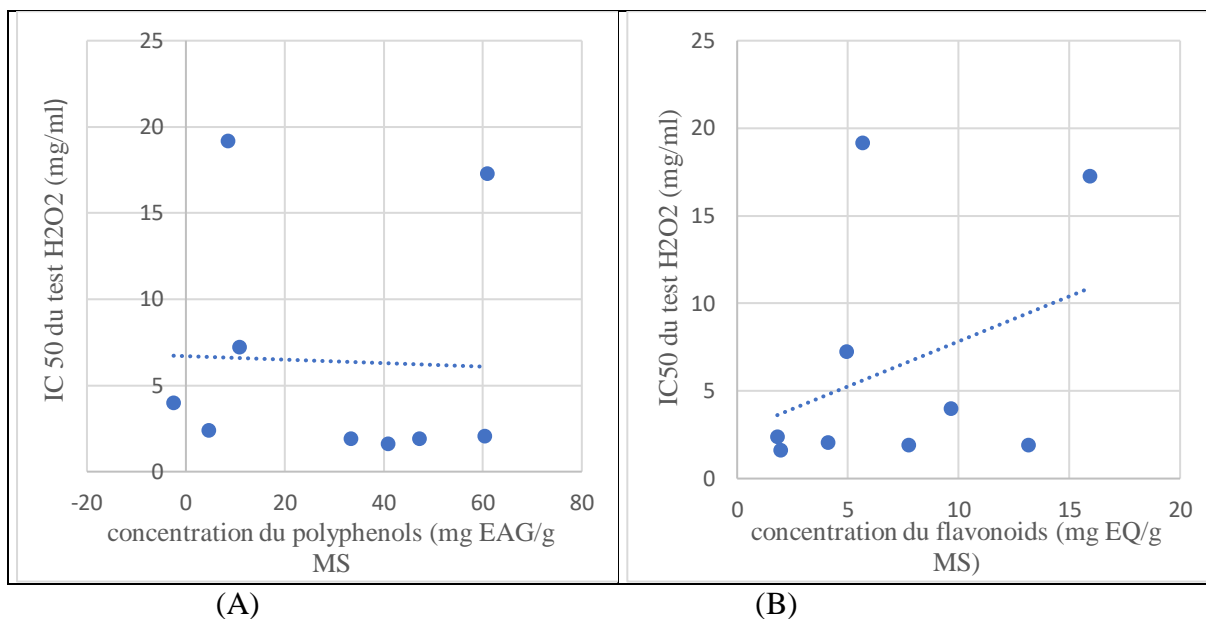


**Annexe 1:** Courbes d'étalonnage : (A) Quercétine pour la quantification des flavonoïdes totaux, (B) Acide gallique pour la quantification des polyphénols totaux

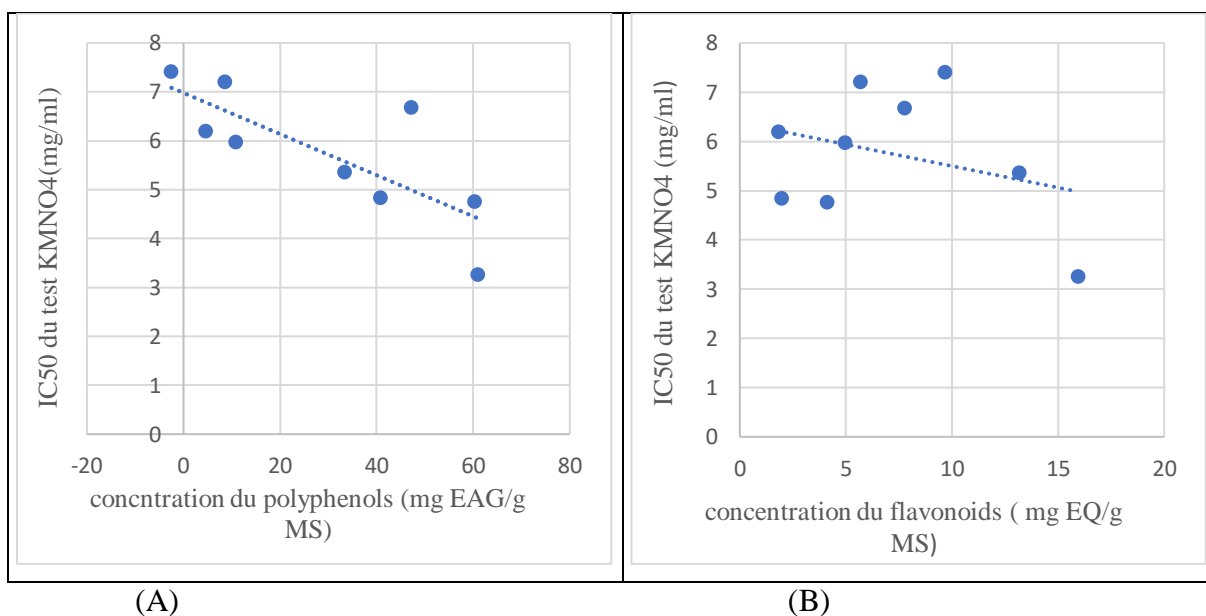


**Annexe 2:** corrélation entre la capacité anti- radical DPPH e et les teneurs en phénols totaux (A) et en flavonoïdes (B)

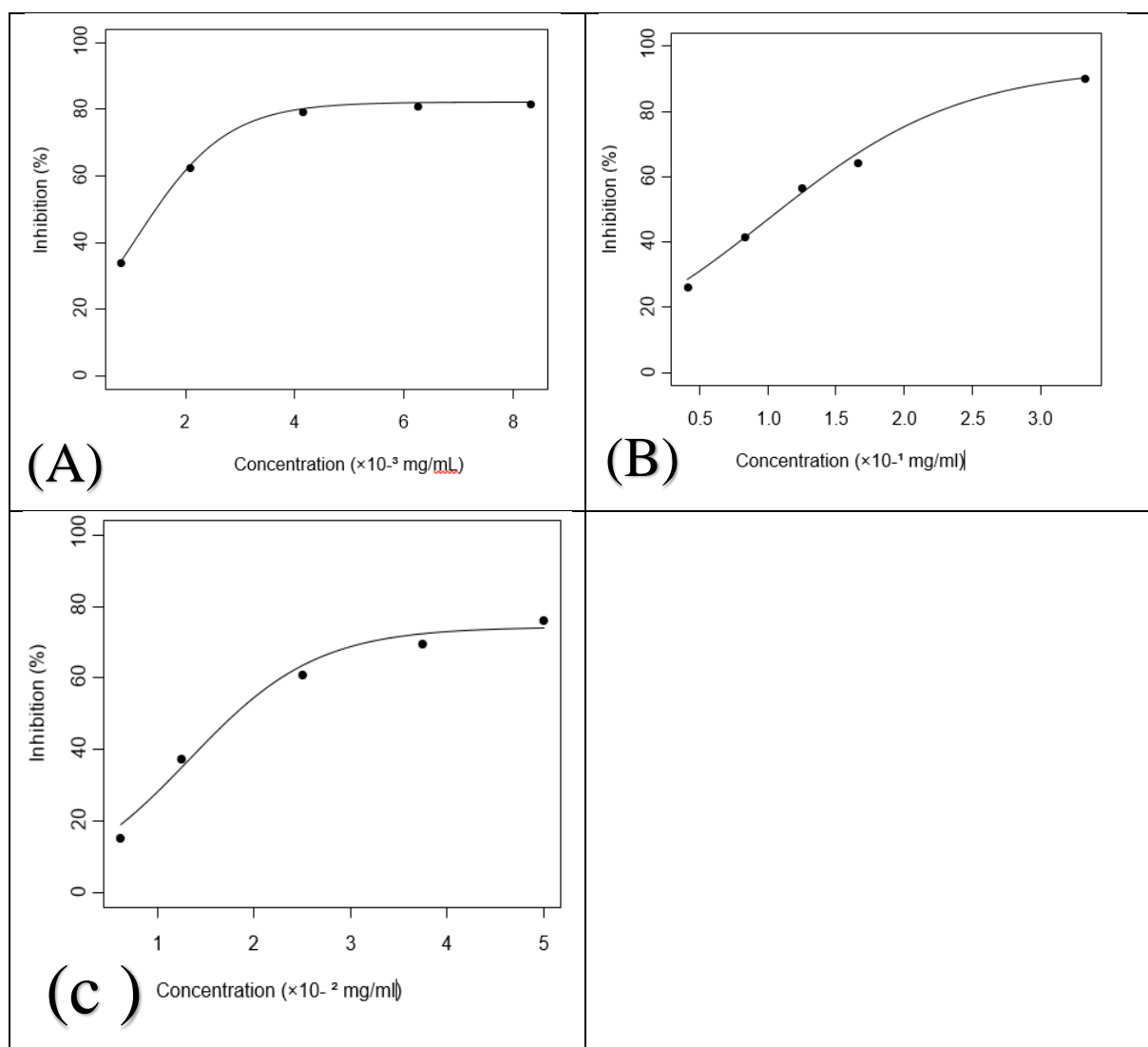




**Annexe 3:** corrélation entre la capacité de neutralisation du H2O2 et les teneurs en phénols totaux (A) et en flavonoïdes (B)



**Annexe 4:** corrélation entre la capacité réductrice (test au KMnO4) et les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes



**Annexe 5 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour l'évaluation du pouvoir antioxydant : A. Inhibition de DPPH ; B. Neutralisation de  $H_2O_2$  ; C. Réduction de  $KMnO_4$ .

## Résumé

Le travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante de flavonoïdes extraits par décoction aqueuse de neuf plantes médicinales (menthe poivrée, romarin, camomille, hibiscus, badiane, cannelle, clou de girofle, curcuma et thé vert), avec un accent sur la menthe poivrée (*Mentha piperita*). Celle-ci a montré une forte activité antioxydante selon trois tests : DPPH ( $IC_{50} = 73 \pm 3.39 \mu\text{g/mL}$ ),  $H_2O_2$  ( $IC_{50} = 19.19 \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$ ) et  $KMnO_4$  ( $IC_{50} = 53.61 \pm 1.71 \mu\text{g/mL}$ ). L'extrait, riche en flavonoïdes (13, 15 mg Eq.Q/g MS) et polyphénols (33,38 mg Eq.AG/g MS), a été encapsulé dans de l'alginate de sodium par gélification ionique. Deux méthodes de libération ont été testées : diffusion passive et sonication, cette dernière offrant une meilleure libération et une activité antioxydante supérieure (Inhibition DPPH = 71,40 %). Les résultats obtenus montrent que l'encapsulation améliore la stabilité des composés phénoliques tout en permettant une libération contrôlée. Cette approche représente une piste prometteuse pour la valorisation des extraits végétaux dans les domaines de la santé, de la nutrition fonctionnelle et du cosmétique.

**Mots-clés :** flavonoïdes, antioxydants, plantes médicinales, encapsulation, menthe poivrée.

## Abstract

This work focuses on evaluating the antioxidant activity of flavonoids extracted by aqueous decoction from nine medicinal plants (peppermint, rosemary, chamomile, hibiscus, star anise, cinnamon, clove, turmeric, and green tea), with a particular emphasis on peppermint (*Mentha piperita*). This plant exhibited strong antioxidant activity according to three tests: DPPH ( $IC_{50} = 73 \pm 3.39 \mu\text{g/mL}$ ),  $H_2O_2$  ( $IC_{50} = 19.19 \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$ ), and  $KMnO_4$  ( $IC_{50} = 53.61 \pm 1.71 \mu\text{g/mL}$ ). The extract, rich in flavonoids (13.15 mg QE/g dry matter) and polyphenols (33.38 mg GAE/g dry matter), was encapsulated in sodium alginate using ionic gelation. Two release methods were tested: passive diffusion and sonication, the latter providing better release and higher antioxidant activity (DPPH inhibition = 71.40%). The results indicate that encapsulation improves the stability of phenolic compounds while allowing controlled release. This approach represents a promising strategy for the valorization of plant extracts in health, functional nutrition, and cosmetics.

**Keywords:** flavonoids, antioxidants, medicinal plants, encapsulation, peppermint.

## المخلص

يرتكز هذا العمل على تقييم النشاط المضاد للأكسدة للفلافونويدات المستخلصة باستخدام الماء المغلي من تسع نباتات طبية، وهي: النعناع الفلفلي، إكليل الجبل، البابونج، الكركديه، اليانسون النجمي، القرفة، القرنفل، الكركم، والشاي الأخضر. وقد تم التركيز بشكل خاص على النعناع الفلفلي (*Mentha piperita*)، حيث أظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة قوياً حسب ثلاثة اختبارات: اختبار DPPH ( $IC_{50} = 73 \pm 3.39$  ميكروغرام/مل)، اختبار  $H_2O_2$  ( $IC_{50} = 19.19 \pm 1.04$  ميكروغرام/مل)، واختبار  $KMnO_4$  ( $IC_{50} = 53.61 \pm 1.71$  ميكروغرام/مل). وقد أظهر المستخلص نتائج غنية بالفلافونويدات (13.15 ملغ مكافئ كيرسيتين لكل غرام من المادة الجافة) والبوليفينولات (33.38 ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام من المادة الجافة). تم تغليفه في ألجينات الصوديوم بواسطة التجلط الأيوني. وقد تم اختبار طريقتين للتحرير: الانتشار السلبي والموجات فوق الصوتية، حيث أظهرت الأخيرة تحريراً أفضل ونشاطاً مضاداً للأكسدة أعلى نسبة تثبيط (DPPH = 71.40 %). تؤكد هذه النتائج فعالية التغليف في تحسين استقرار المركبات الفينولية وتحريرها بشكل موجه، مما يفتح آفاقاً واعداً لاستخدام المستخلصات النباتية في التطبيقات الصحية، الغذائية، والتجميلية.

**الكلمات المفتاحية :** الفلافونويدات، مضادات الأكسدة، النباتات الطبية، التغليف، النعناع الفلفلي.

