

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/FSNVST/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Djarkboub imen & Idioui Samira

Thème

**L'étude de caractéristiques physico chimiques et l'activité
antioxydantes de pollen**

Soutenu le: 04 / 07 /2023

Devant le jury composé de :

| <i>Nom et Prénom</i> | <i>Grade</i> | | |
|----------------------|--------------|-----------------|---------------|
| M. LEKBAL Farouk | MAA | Univ. de Bouira | Président |
| M. Kadri Nabil | Professer | Univ. de Bouira | Promoteur |
| Mme.GUELAL Drifa | MCA | Univ. de Bouira | Examinatrice |
| Mme Mameri Amal | Docteur | Univ.de Bouira | Co-promotrice |

Année Universitaire : 2022/2023



Remerciement



Tout d'abord Nous remercions DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage et la Volonté de terminer ce travail.

al-Hamdu li allâh

*En préambule, nous voulons adresser tous nos remerciements aux personnes avec lesquelles on a pu échanger et qui nous ont aidés pour la rédaction de ce mémoire. Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos profondes gratitude à notre promoteur **Mr kadri Nabil** et Co-promotrice **Mameri amel** pour leur suivi, leur énorme soutien, le temps qu'ils nous ont consacré, on les remercier de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés.*

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de laboratoire de biochimie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université de Bouira , pour leur patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont portaient à notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches. Enfin, dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Grâce à Allah et avec sa faveur, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes très chers parents maman et papa, ma source de vie, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur sacrifice, leur encouragement et leur soutien tout au long de mes études, que DIEU les bénisse.

*À l'énergie Universelle, mon frère « **YASSIN** » éternelle d'inspiration, ma fierté, qui a toujours su respecter mes décisions et qui m'a soutenu aux moments de faiblesse. Les mots ne suffisent pas pour exprimer l'amour et l'affection que je porte pour toi, merci pour ta générosité et pour tout le sacrifice que tu as donné pour moi. Sans toi je ne puisse arriver à ce que je suis.*

*A mes chères sœurs **NOUR, IMANE** et **SARA**. Je vous remercie d'être toujours à mes côtés de me soutenir, aimer et protéger et pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous aime infiniment.*

A toute ma famille de côté paternelle et maternelle et les personnes qui me sont chères.

*A mon promoteur **Mr. KADRI Nabil**, qui est toujours prêt pour assumer sa responsabilité scientifique. Son savoir-faire m'a permis d'avoir conscience des objectifs à atteindre lors de la réalisation de mémoire.*

*Un spécial dédicace à mon magnifique binôme « **IMANE** ».*

*Sans oublier mes chères : **Ikram**, **Ahlam**, **Tasnim**, **Bilsan** et **Linda***

Idioui samira

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chères parentes, qui ont consacré toute leur vie à mon éducation,

*A mon héros mon modèle, **mon cher papa** qui a tant travaillé et travaillé, que je puisse revenir à ce que j'ai atteint aujourd'hui je t'aime*

*À ma chère **mère**, qui attendait ce moment avec impatience le jour où j'ai eu mon diplôme, je t'aime*

*À mon Frère **Ahmed** et sa femme **Samar** et leur magnifique fille **KAMAR ALINE***

Que dieu la bénisse

*À mes chères sœurs **MANEL, Hanane Amira, Rania, Meryem** je vous aime*

*A une personne très chère à mon cœur, **H, Youcef** Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur. Je vous remercie d'être toujours à mes côtés de me soutenir, aimer et protéger et pour tous ce que vous avez fait pour moi.*

*A ma copine d'amour **Kenza** et **sa famille** merci pour tous je vous aime*

*À mon binôme et ma douce **Idioui Samira**,*

*A mes chères amis **Thileli, Flora, Ouarda, Sabrina, Fariza** merci pour tous*

*A mon promoteur **Kadri Nabil** qui est toujours prêt pour assumer sa responsabilité scientifique. Son savoir-faire m'a permis d'avoir conscience des objectifs à atteindre lors de la réalisation de mémoire.*

*A toute ma famille de côté paternelle **DJEKBOUB** et maternelle **FERGANI** et les personnes qui me sont chères.*

*Et je dédie particulièrement ce travail à la personne la plus chère à mon cœur, mon frère et ma vie, **chams Al-Din***

Djakhboub imen

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I Généralité sur le pollen..... 2

I.1 Définition..... 2

I.2 Présentation du pollen 3

I.3 La pollinisation 4

I.4 Les caractéristiques physico-chimiques du pollen 4

I.5 Méthode de récolte 5

I.6 Composition nutritionnelle 7

I.7 Effets thérapeutiques du pollen 7

II Généralité sur le yaourt..... 10

II.1 Définition..... 10

II.2 Composition chimique du yaourt : 10

II.3 Bactéries spécifiques du yaourt 10

II.4 Croissance associative dans le yaourt..... 12

II.5 Le processus de fabrication de yaourt : 13

II.6 Valeurs nutritionnelles et intérêts thérapeutiques de yaourt 14

II.7 Intérêts thérapeutiques..... 14

Partie pratique

I Matériel et méthodes..... 16

I.1 Préparation de l'échantillon..... 16

I.2 Matériel végétal 16

I.3 Extraction..... 17

I.4 Calcule du rendement 19

I.5 Dosages des polyphénols totaux..... 19

I.6 Dosage des flavonoïdes 20

I.7 Evaluation de l'Activité antioxydante 21

I.8 Activité antiradicalaire utilisant le DPPH 21

I.9 Pouvoir antiradicalaire ABTS..... 23

| | | |
|-----------|---|-----------|
| I.10 | Enrichissement du yaourt avec le pollen : | 24 |
| I.11 | Analyses physicochimiques..... | 25 |
| II | Résultats et discussions..... | 27 |
| II.1 | Le Rendement..... | 27 |
| II.2 | Les cendres | 27 |
| II.3 | L'humidité..... | 27 |
| II.4 | Dosage des antioxydants d'extrait de pollen | 28 |
| II.5 | Evaluation de l'activité antioxydante | 30 |
| II.6 | L'analyse physico- chimique de yaourt enrichi | 31 |
| II.7 | Dosages des antioxydants du yaourt enrichi au pollen..... | 33 |
| II.8 | L'activité antiradicalaire DPPH..... | 34 |
| | Conclusion..... | 44 |

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

| | |
|-------------------|---|
| Abs | Absorbance |
| ABTS | 2, 2-Azinobis 3-éthyle-Benzo Thiazoline-6-Sulphonate. |
| DPPH | 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil |
| EAU | extraction assistée par ultrasons |
| Fe+2 | ions ferreux Fe+3 : ions ferriques |
| FeCl3 | Chlorure de fer |
| Mg EAG/gES | mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec |
| nm | Nanomètre |
| PARF | Potentiel Réducteur Ferriques d'Antioxydants |
| R % | Rendement en % |
| TPC | Teneur total en polyphénols |
| TFC | teneur total en flavonoïdes |
| µl | Microlitre |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: la pollinisation (Porteau, 2013)..... | 2 |
| Figure 2: La structure schématique d'un grain de pollen a été étudiée par Prost en 1987. | 3 |
| Figure 3: présente une photographie montrant les pelotes de pollen. | 5 |
| Figure 4: Capture de pollen (Agrilisa, 2017) | 6 |
| Figure 5: Streptococcus thermophilus (Terre ;1986)..... | 11 |
| Figure 6: Lactobacillus Bulgaricus (Terre ;1986) | 12 |
| Figure 7: proto coopération entre S. thermophilus et lb. Bulgaricus (Mahout et al ;2000) | 12 |
| Figure 8: Processus de fabrication de yaourt : yaourt ferme et yaourt brassé (Weerathilake et al ;2014)..... | 13 |
| Figure 9: Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux (test de décoloration de l'ABTS, DPPH et dosage des TPC) | 16 |
| Figure 10: Image des pelotes de pollen. | 17 |
| Figure 11: Photographie de pollen tamisée | 17 |
| Figure 12: photographie d'un ultrason | 18 |
| Figure 13: Photographie d'une centrifugeuse | 18 |
| Figure 14: photographie d'un vapeur | 18 |
| Figure 15: Le mécanisme réactionnel qui se produit lors du test DPPH• entre le radical DPPH• et un antioxydant (AH) a été représenté dans l'étude réalisée par Michel en 2011. | 23 |
| Figure 16: Réaction de l'ABTS• avec des composés antioxydants (Boligon et al., 2014)..... | 24 |
| Figure 17: photographie de yaourt enrichi et non enrichi | 24 |
| Figure 18: histogramme présente les valeurs de ph du yaourt enrichi | 32 |
| Figure 19: la teneur en flavonoïdes dans le yaourt enrichi | 33 |
| Figure 20: la teneur en polyphénols dans le yaourt enrichi..... | 34 |
| Figure 21: l'activité anti radicalaire DPPH de pollen | 35 |
| Figure 22: évaluation de l'activité anti radicalaire DPPH dans le yaourt enrichi | 36 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I: compositions chimiques du yaourt nature au lait partiellement écrémé (Syndifrais, 1997)..... | 10 |
| Tableau II: les quantités de l'extrait de pollen incorporés dans le yaourt nature | 24 |
| Tableau III: Résultats des teneurs du pollen en antioxydants | 28 |
| Tableau IV: Résultats des tests antiradicalaires..... | 30 |
| Tableau V: l'acidité titrable du yaourt additionné de pollen d'abeille | 32 |

Résumé

Ce travail de recherche se concentre sur l'enrichissement d'un yaourt avec du pollen, en mettant en évidence les aspects physico-chimiques, les dosages des antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes) et l'activité antiradicalaire. Les résultats obtenus ont révélé une teneur significative en polyphénols totaux (17,26 mg EGA/g) et en flavonoïdes (8,35 mg EQ/g), ainsi qu'une activité antiradicalaire élevée mesurée par les tests DPPH ($65,31 \pm 1,05\%$) et ABTS ($83,80 \pm 0,23\%$).

Un yaourt enrichi en pollen a été préparé et soumis à diverses analyses, notamment le pH, l'acidité, l'extrait sec total, la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire mesurée par le test DPPH.

Ce travail met en avant l'intérêt de l'enrichissement du yaourt avec du pollen, en soulignant ses propriétés antioxydantes et ses bienfaits potentiels pour la santé. Les résultats obtenus démontrent que le pollen peut être une source précieuse de composés bioactifs, tels que les polyphénols et les flavonoïdes, qui contribuent à l'activité antioxydante du yaourt enrichi.

En résumé, cette étude met en évidence les bénéfices de l'enrichissement du yaourt avec du pollen, en fournissant des résultats quantitatifs sur les composés actifs et l'activité antiradicalaire. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'utilisation du pollen comme ingrédient fonctionnel dans les produits laitiers, offrant ainsi une option attrayante pour l'amélioration de la valeur nutritionnelle des aliments.

Abstract

This research focuses on the enrichment of yoghurt with pollen, highlighting physico-chemical aspects, antioxidant assays (total polyphenols, flavonoids) and anti-free radical activity. The results obtained revealed a significant content of total polyphenols (17.26 mg EGA/g) and flavonoids (8.35 mg EQ/g), as well as high antiradical activity measured by DPPH ($65.31 \pm 1.05\%$) and ABTS ($83.80 \pm 0.23\%$) tests.

A pollen-enriched yoghurt was prepared and subjected to various analyses, including pH, acidity, total dry extract, polyphenol content, flavonoids and antiradical activity measured by the DPPH test.

This work highlights the value of enriching yoghurt with pollen, emphasizing its antioxidant properties and potential health benefits. The results obtained demonstrate that pollen can be a valuable source of bioactive compounds, such as polyphenols and flavonoids, which contribute to the antioxidant activity of enriched yoghurt.

In summary, this study highlights the benefits of enriching yoghurt with pollen, providing quantitative results on active compounds and anti-free radical activity. These results open up interesting prospects for the use of pollen as a functional ingredient in dairy products, offering an attractive option for improving the nutritional value of foods.

ملخص:

يركز هذا البحث على إثراء الزبادي بحبوب اللقاح ، وتسهيل الضوء على الجوانب الفيزيائية والكيميائية ، وجرعات مضادات الأكسدة (البوليفينول الكلي ، الفلافونويد) والنشاط المضاد للجراثيم. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود محتوى معنوي من البوليفينول الكلي (17.26 ملجم / EGA جم (والفلافونويدات 8.35 ملجم / EQ جم ، بالإضافة إلى نشاط عالي مضاد للتشوه تم قياسه بواسطة اختبارات DPPH ($65.31 \pm 1.05\%$) و ABTS ($83.80 \pm 0.23\%$).

تم تحضير زيادي غني بحبوب اللقاح وخضع لتحليلات مختلفة ، بما في ذلك الرقم الهيدروجيني ، والحموضة ، والمستخلص الجاف الكلي ، ومحتوى البوليفينول والفلافونويد ، والنشاط المضاد للفطريات المقاسة باختبار DPPH.

يسلط هذا العمل الضوء على قيمة إثراء الزيادي بحبوب اللقاح ، وتسليط الضوء على خصائصه المضادة للأكسدة والفوائد الصحية المحتملة. توضح النتائج التي تم الحصول عليها أن حبوب اللقاح يمكن أن تكون مصدرًا قيمًا للمركبات النشطة بيولوجيًا ، مثل البوليفينول والفلافونويد ، والتي تساهم في النشاط المضاد للأكسدة في الزيادي المدعم.

باختصار ، تسلط هذه الدراسة الضوء على فوائد إثراء الزيادي بحبوب اللقاح ، مما يوفر نتائج كمية على المركبات النشطة ونشاط الكسح. تفتح هذه النتائج آفاقًا مثيرة للاهتمام لاستخدام حبوب اللقاح كعنصر وظيفي في منتجات الألبان ، مما يوفر خيارًا جذابًا لتحسين القيمة الغذائية للأطعمة.



Introduction

Introduction

Les produits apicoles, tels que le miel, la gelée royale, la propolis, la cire d'abeille et le pollen d'abeille, suscitent un intérêt croissant en raison de leur teneur élevée en composés bioactifs bénéfiques pour la santé. Parmi ces produits, le pollen d'abeille se distingue en tant qu'aliment fonctionnel contenant une concentration élevée de composés bénéfiques tels que les acides aminés essentiels, les composés phénoliques, les vitamines et les pigments qui possèdent des propriétés antioxydantes puissantes. **(Bourlioux et al ;2011)**

Le lait est un ingrédient polyvalent utilisé dans de nombreux produits laitiers qui jouent un rôle essentiel dans notre alimentation, tels que le lait, le fromage, le yaourt, le beurre, la crème et les desserts lactés. **(Coulet, 2017)**

Le yaourt, avec son histoire riche, fait l'objet de nombreuses recherches ces dernières années. Des études épidémiologiques ont établi un lien entre la consommation de yaourt et des habitudes alimentaires saines, faisant du yaourt un indicateur universel de la qualité alimentaire. **(Kieliszek et al ;2017)**

Dans cette étude, notre objectif est d'explorer les caractéristiques physico-chimiques du pollen d'abeille, en particulier sa teneur en composés phénoliques et son activité antioxydante. Nous nous concentrons sur l'enrichissement d'une marque populaire de yaourt, SOUMMAM naturelle, avec les bienfaits nutritionnels et thérapeutiques du pollen. En combinant la valeur nutritionnelle du yaourt avec les propriétés bioactives du pollen, nous pouvons créer un produit de yaourt offrant une valeur nutritionnelle et thérapeutique accrue.

Ce travail comprend une revue de littérature approfondie et une section expérimentale. La revue de littérature comprend deux chapitres : le premier chapitre aborde le pollen, en discutant de sa composition, de ses propriétés, des méthodes de récolte et de sa valeur nutritionnelle et thérapeutique. Le deuxième chapitre met l'accent sur le yaourt, en examinant ses propriétés et le processus de fabrication du yaourt.

En résumé, notre étude vise à contribuer à la compréhension des caractéristiques physico-chimiques du pollen d'abeille, notamment sa teneur en composés phénoliques et son activité antioxydante. En enrichissant le yaourt avec du pollen, nous pouvons créer un produit hautement nutritif et bénéfique, en exploitant les avantages potentiels des deux ingrédients



*Synthèse
bibliographique*



Chapitre 1
Généralité sur le pollen

I Généralité sur le pollen

I.1 Définition

Le pollen est la structure mâle des plantes, également appelée gamétophyte mâle. Sa fonction est de fournir le noyau haploïde qui fécondera la cellule haploïde femelle, connue sous le nom d'oosphère. Le pollen est contenu dans les anthères, des sacs polliniques suspendus aux extrémités des filets, qui forment ensemble l'étamine. Les grains de pollen sont souvent colorés en jaune ou en orange grâce à la présence de pigments protecteurs tels que les caroténoïdes et les flavonoïdes. Cependant, selon les espèces, les grains de pollen peuvent également présenter des couleurs pourpres, vertes, blanches, violettes, bleues ou roses. (Meyer et al 2004).

Les grains de pollen représentent une génération supplémentaire et sont l'élément reproducteur mâle des plantes supérieures. Ils sont produits dans les anthères des plantes à fleurs à partir de cellules mères contenant des noyaux diploïdes volumineux. Lors du transport, les grains de pollen se séparent complètement de la plante mère et sont parfaitement adaptés à leur rôle, qui est de transférer le matériel génétique. Ils sont capables de résister aux conditions stressantes de l'environnement pendant leur parcours vers les parties femelles de la fleur. Les grains de pollen se déposent sur le pistil de la fleur afin de la féconder, donnant ainsi naissance à une graine qui germera pour former une nouvelle plante. (Mehdi ,2016)

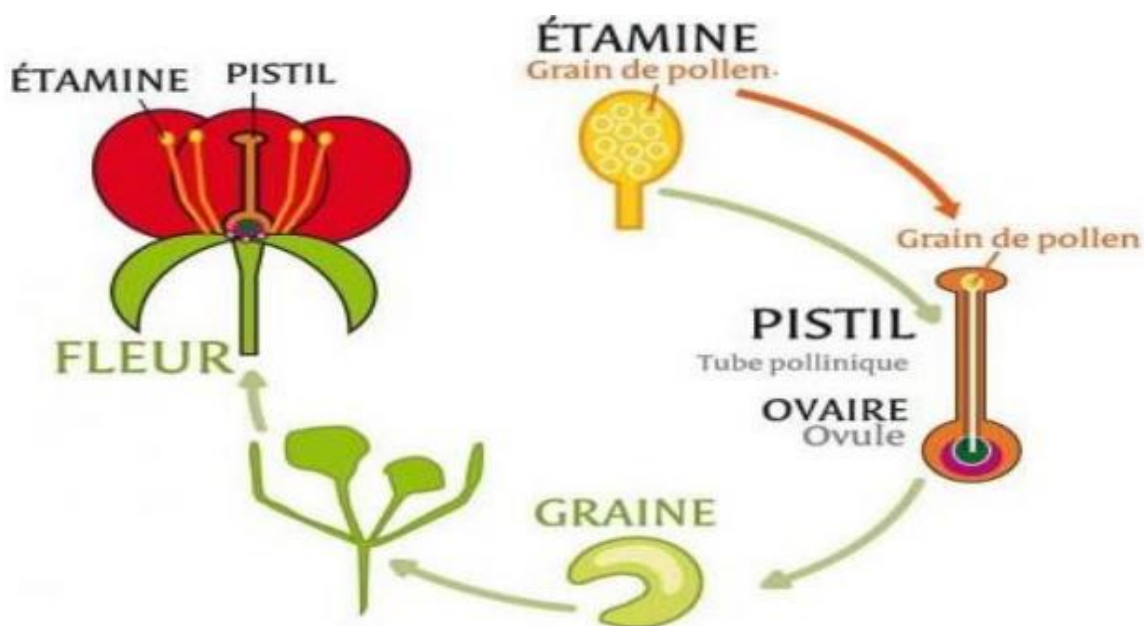


Figure 1: la pollinisation (Porteau, 2013)

I.2 Présentation du pollen

La taille des grains de pollen peut varier de 0,002 à 0,3 mm. Ils se distinguent par leur forme et l'ornementation de leur paroi, composée de sporopollénine, un polymère dur et compact qui est la substance naturelle la plus résistante produite par une plante. La composition du pollen présente une grande variabilité, mais certains composants sont constants, tels que les protéines (environ 20 %), les glucides (de 25 à 48 %), les lipides (de 1 à 20 %), les vitamines (notamment les vitamines B, C, le carotène et les caroténoïdes) et les sels minéraux (environ 3 %). Un grain de pollen est composé d'un cytoplasme riche en réserves qui renferme les noyaux reproducteurs et végétatifs, entouré d'un sporoderme. Ce dernier est constitué de deux couches concentriques :

- ✓ L'intine, une mince pellicule interne de nature cellulosique.
- ✓ L'exine, une enveloppe extérieure composée de sporopollénine (une substance fortement polymérisée appartenant au groupe des caroténoïdes). Cette couche confère au grain de pollen la capacité de résister à diverses causes de dégradation et de se conserver pratiquement indéfiniment au fil du temps.

Chaque grain de pollen d'une espèce végétale peut être identifié grâce à son observation microscopique, qu'il s'agisse d'une observation optique ou électronique, en se basant sur sa forme, sa taille, ses caractéristiques morphologiques et la structure variée de sa surface. (Renault et al., 1992).

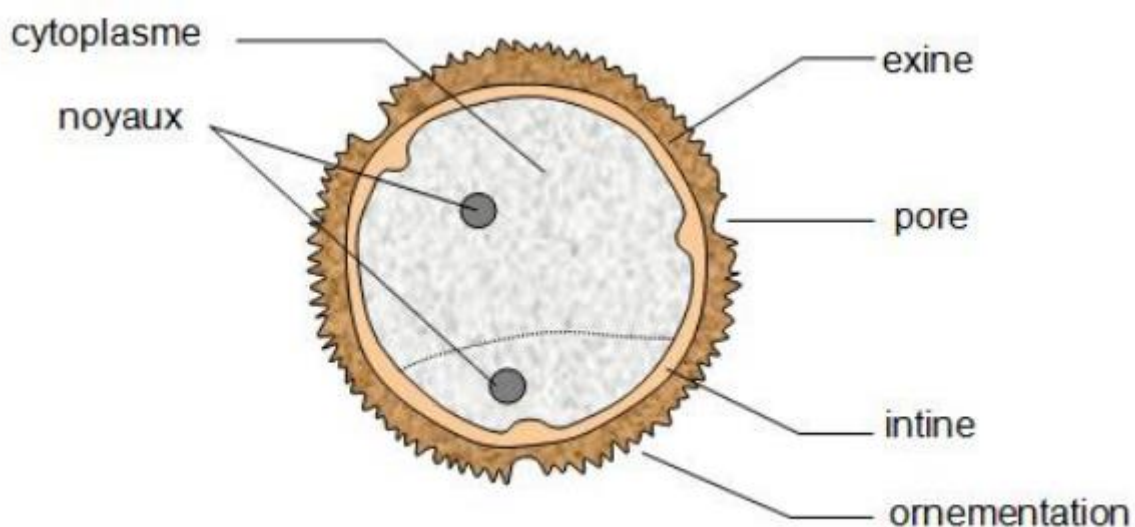


Figure 2: La structure schématique d'un grain de pollen a été étudiée par Prost en 1987.

I.3 La pollinisation

Est le processus de déplacement des grains de pollen des étamines vers le stigmate. On distingue deux types de pollinisation : l'autopollinisation et la pollinisation croisée.

L'autopollinisation se produit lorsqu'il y a transfert de pollen entre deux organes reproducteurs de la même plante. Cela peut se produire entre les deux organes d'une même fleur dans le cas d'une fleur hermaphrodite, ou entre deux fleurs différentes d'une même plante dans le cas de plantes monoïques. En revanche, la pollinisation croisée correspond au transfert de pollen d'une anthère d'une plante vers le stigmate d'une autre plante de la même espèce.

La pollinisation croisée est essentielle chez les plantes dioïques, mais elle se produit également fréquemment chez les plantes monoïques ou hermaphrodites, car ce type de pollinisation favorise la diversité génétique de la descendance. Dans ce cas, le transfert de pollen nécessite l'intervention d'un vecteur. Différents modes de pollinisation sont définis en fonction du vecteur utilisé :

L'anémophilie ou anémogamie : le pollen est transporté par le vent. Ce mode de pollinisation est prédominant chez les Gymnospermes.

La zoïdophilie : la pollinisation est assurée par des animaux tels que les insectes, les oiseaux, les chauves-souris ou les mollusques gastéropodes.

L'hydrophilie : ce mode de pollinisation concerne un nombre limité d'espèces. Il s'agit de plantes aquatiques qui fleurissent et se pollinisent sous l'eau.

Cependant, la simple mise en contact du pollen et du stigmate, que ce soit directement ou par l'intermédiaire de vecteurs biotiques ou abiotiques, ne garantit pas encore la fécondation. Plusieurs étapes supplémentaires sont nécessaires pour que les gamètes puissent se rencontrer et se fertiliser. (Chloé dibos,2010)

I.4 Les caractéristiques physico-chimiques du pollen

Présentent des variations significatives en fonction des plantes butinées. La couleur, l'apparence, l'odeur et le goût du pollen varient considérablement en fonction de son origine.

En ce qui concerne la taille, les pelotes de pollen récoltées par les abeilles peuvent varier en taille en fonction des sources de collecte, mais en moyenne, elles ont un diamètre d'environ 2,5 mm.

L'odeur du pollen peut rappeler celle du foin et peut varier en fonction de sa fraîcheur, qu'il soit frais ou congelé.

Le goût du pollen peut être sucré, aigre, amer ou épicé, et il a une texture farineuse.

En ce qui concerne la couleur, la plupart des pelotes de pollen sont généralement jaunes ou jaune-brun, mais il est également possible de trouver d'autres couleurs telles que le rouge, le violet ou le noir, en fonction de l'origine botanique du pollen.

La couleur, l'apparence, l'odeur et le goût du pollen varient fortement selon l'origine des plantes butinées. (Bouguenoun,2016)



Figure 3: présente une photographie montrant les pelotes de pollen.

I.5 Méthode de récolte

I.5.1 Collecte effectuée par les apiculteurs

L'apiculteur collecte le pollen pendant la période de croissance, lorsque la végétation est abondante en plantes riches en pollen. Cette collecte doit prendre en compte les besoins de la ruche, car elle affecte le développement de la colonie. En général, l'apiculteur prélève environ 10% du pollen, ce qui stimule la colonie. Cependant, il est important de veiller à ne pas priver excessivement les abeilles, car cela pourrait affaiblir leur santé et entraîner leur mort. En effet, le pollen est essentiel pour l'élevage des larves et leur alimentation. Pour réaliser cette collecte, des trappes à pollen sont utilisées, et il est important de les espacer de quelques jours tout en alternant les colonies productrices. (Marion 2017)



Figure 4: Capture de pollen (Agrilisa, 2017)

I.5.2 Récolte de pollen par l'abeille

La récolte de pollen par les abeilles est effectuée par les jeunes butineuses. Voici le processus qu'elles suivent :

Préparation : Les abeilles élèvent des levures et des ferments lactiques dans le nectar qu'elles récoltent. Cela se fait à l'intérieur de la ruche.

Départ de la ruche : Lorsqu'une abeille quitte la ruche à la recherche de fleurs à butiner, elle remplit son jabot avec le nectar qu'elle a préparé. Ce nectar riche est régurgité doucement sur leurs pattes postérieures au moment de butiner.

Ce comportement est observable lorsque l'abeille est en vol stationnaire.

Contact avec la fleur : L'abeille se pose sur la fleur, et le pollen, qui est initialement sous forme de poussière, se dépose sur son corps lors du contact. Si le pollen ne s'est pas déposé naturellement sur la fleur, l'abeille le libère directement sur les étamines.

Rassemblement du pollen : Une fois couverte de pollen, l'abeille utilise sa première paire de pattes pour rassembler le pollen. Elle le brosse et le fait passer de l'avant à l'arrière de son corps à l'aide de sa deuxième paire de pattes.

Stockage du pollen : Les boules de pollen ainsi formées arrivent aux pattes arrière de l'abeille et deviennent plus imposantes. Les poils présents sur ces pattes permettent de retenir les pelotes de pollen.

Compactage et ensemencement du pollen : Une fois les "corbeilles" pleines, l'abeille effectue un vol stationnaire. Cela lui permet d'hydrater les pelotes de pollen en régurgitant à nouveau du nectar et de les compacter. Ce processus favorise l'ensemencement du pollen par les levures et les ferments lactiques.

Répétition du processus : L'abeille répète ces étapes sur chaque fleur jusqu'à ce que les boules de pollen soient suffisamment grosses pour être rapportées à la ruche. Elles peuvent

attendre que le poids des pelotes atteigne celui de l'abeille elle-même, ce qui correspond à environ 110 mg.

Le pollen récolté, en tant que source de nourriture riche, est principalement utilisé pour nourrir les larves. C'est pourquoi les abeilles déposent le pollen dans les alvéoles du garde-manger, situées près du couvain (les larves en développement) dans la ruche. (Marion 2017)

I.6 Composition nutritionnelle

La composition nutritionnelle du pollen varie selon l'espèce de plante à partir de laquelle il est recueilli. Cependant, en général, le pollen est riche en protéines (environ 25%), en acides aminés, en vitamines (notamment B-complexes) et en minéraux (notamment le zinc, le fer et le magnésium). Le pollen contient également des polyphénols, des caroténoïdes, des acides gras essentiels et des antioxydants. En raison de sa teneur élevée en protéines, le pollen est souvent utilisé comme complément alimentaire pour les athlètes et les bodybuilders. Il est également souvent consommé pour ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes. (Masseaux. 2016)

I.7 Effets thérapeutiques du pollen

I.7.1 Propriétés antioxydantes

Le pollen d'abeille est considéré comme l'un des produits naturels riches en antioxydants, largement utilisés pour lutter contre le stress oxydatif et les affections qui lui sont associées. Des études ont démontré que l'activité antioxydante du pollen d'abeille est attribuée à sa teneur en métabolites secondaires, tels que la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les composés phénoliques. Les flavonoïdes présents dans le pollen d'abeille, grâce à leurs groupes hydroxyle phénolique, sont capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les radicaux libres, ainsi que d'inactiver les électrophiles. Ces propriétés antioxydantes du pollen d'abeille lui confèrent un potentiel thérapeutique dans la prévention et le traitement des troubles liés au stress oxydatif. (Apimondia, 2001 ; Nagai et al., 2005)

I.7.2 Propriétés antidiabétique et anti-hyperglycémiantes

Le pollen d'abeille a été étudié pour ses propriétés antidiabétiques et anti-hyperglycémiantes. Le diabète sucré est un trouble endocrinien caractérisé par une sécrétion insuffisante d'insuline et/ou une utilisation défectueuse de celle-ci. Des recherches, menées par Nema et al., ont montré que l'administration quotidienne de 100 mg/kg de pollen d'abeille pendant 4 semaines a permis de réduire la glycémie et de prévenir les dysfonctionnements de

l'axe hypophyse-testiculaire. De plus, chez les patients atteints de diabète sucré insulino-indépendant (DT2), le pollen d'abeille a démontré une puissante activité anti-hyperglycémique. Ses constituants bioactifs permettent de moduler l'absorption du glucose et d'inhiber les activités de l' α -amylase et de la β -glucosidase, contribuant ainsi à la gestion du diabète et de ses complications graves (**Thibault ;2017**)

I.7.3 Propriétés hépato-protectrice

Le pollen d'abeille présente des propriétés hépato-protectrices puissantes. Selon Cheng et ses collègues, l'administration d'extrait de pollen d'abeille a montré une augmentation de l'activité de la catalase tissulaire, de la SOD et de la GSH-Px, et a prévenu les altérations histologiques du foie induites par le tétrachlorure de carbone chez la souris. Ces résultats suggèrent que le pollen d'abeille pourrait jouer un rôle potentiel dans la prévention des dommages hépatocellulaires liés à l'exposition à des substances étrangères. Cette capacité protectrice du foie est principalement attribuée à la présence d'antioxydants naturels tels que les phénols et les flavonoïdes dans le pollen d'abeille. De nombreuses études se sont intéressées à la capacité hépato-protectrice des composés phénoliques (**Pasquale et al ;2013**)

I.7.4 Propriétés néphroprotectrices

Le pollen d'abeille, en raison de sa composition riche en diverses molécules bioactives, présente une activité néphroprotectrice puissante. Dans une étude réalisée sur des rats, il a été observé que l'extrait de pollen d'abeille améliorait les paramètres biochimiques tels que la créatinine et la bilirubine, renforçait le système de défense antioxydant comprenant la SOD, la CAT et le GSH, réduisait les biomarqueurs du stress oxydatif tels que le MDA et l'iNOS, et prévenait les dommages histologiques rénaux induits par le cisplatine. De plus, l'administration intrapéritonéale d'api génine a conduit à une diminution des niveaux de COXI, COXII et MDA, ainsi qu'à une augmentation des niveaux rénaux de GSH (**Thibault ;2017**)

I.7.5 Propriétés anti-inflammatoires


Le pollen d'abeille a été largement étudié pour ses propriétés anti-inflammatoires, et de nombreuses recherches scientifiques ont confirmé son puissant effet dans ce domaine. Les extraits de pollen d'abeille contiennent des flavonoïdes et des acides phénoliques qui jouent un rôle essentiel dans leur activité anti-inflammatoire. Plusieurs composés phénoliques individuels ont démontré des effets anti-inflammatoires en agissant sur différentes voies de signalisation. Par exemple, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide cinnamique, qui sont

des acides phénoliques présents dans le pollen d'abeille, sont connus pour leur puissante inhibition du facteur de nécrose tumorale (TNF), ce qui conduit à une régulation négative de la voie de signalisation pro-inflammatoire du facteur nucléaire NF-KB (**Bogdanov, 2014**)

I.7.6 Antidépresseur

Pour mieux comprendre l'effet du pollen sur la dépression, il est important de comprendre le mécanisme de cette maladie. La dépression est une affection qui répond à des critères précis. le patient doit présenter au moins cinq des symptômes suivants de manière quotidienne pendant au moins deux semaines (**l'Inserm ;2016**)

- ✓ Tristesse quasi permanente.
- ✓ Perte d'intérêt pour toutes les activités et absence de plaisir.
- ✓ Sentiment de dévalorisation et de culpabilité.
- ✓ Idées morbides.
- ✓ Ralentissement psychomoteur.
- ✓ Fatigue importante (asthénie).
- ✓ Perte d'appétit.
- ✓ Troubles du sommeil.
- ✓ Difficultés de concentration.



Chapitre II
Généralité sur le
yaourt

II Généralité sur le yaourt

II.1 Définition

Le yaourt peut être défini scientifiquement comme un produit laitier fermenté obtenu par l'incubation de lait avec des souches de bactéries lactiques spécifiques, principalement *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, à une température comprise entre 38 et 43°C. La fermentation entraîne l'acidification du lait et la coagulation des protéines, ce qui donne une texture proche d'un gel, ainsi qu'un goût et une odeur acidulés caractéristiques. Le yaourt peut être fabriqué avec du lait, tout ou partiellement écrémé ou entier, de vache, de brebis, de chèvre ou d'autres animaux, et peut être aromatisé ou sucré pour répondre aux préférences des consommateurs (Gelebart ; 2019)

II.2 Composition chimique du yaourt :

Le yaourt est principalement composé d'eau, de protéines, de glucides, de lipides et de minéraux. Sa composition chimique peut varier en fonction du lait utilisé (vache, chèvre, brebis)

Tableau I: compositions chimiques du yaourt nature au lait partiellement écrémé (Syndifrais, 1997).

| Composition pour 100 g | Yaourt entier non sucré |
|-------------------------------|--------------------------------|
| Eau | 87.90 |
| Lipides (g) | 1,2 |
| Glucides (g) | 5 |
| Protides (mg) | 4,3 |
| Phosphore (mg) | 114 |
| Magnésium (mg) | 13 |
| Calcium (mg) | 148 |

II.3 Bactéries spécifiques du yaourt

Les bactéries spécifiques utilisées pour fermenter le lait et produire du yaourt sont généralement des souches de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*. Ces bactéries lactiques sont capables de métaboliser le lactose présent dans le lait et de produire de l'acide lactique, ce qui entraîne l'acidification du lait et la coagulation des protéines.

II.3.1 *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus est une bactérie Gram-positive de forme coccale, facultativement

anaérobie et immobile et non pathogène, probiotiques. Elle est principalement présente dans les laits et fromages fermentés. Cette bactérie thermorésistante est sensible à la méthylène bleue (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est isolée du lait et des produits laitiers et se présente sous forme de chaînes de longueurs variables ou de paires de coques. Sa température de croissance optimale varie entre 40 et 50°C, et elle présente un métabolisme homofermentaire. Son rôle majeur est de fermenter le lactose présent dans le lait pour produire de l'acide lactique, qui acidifie le produit. De plus, elle contribue à la texture des laits fermentés en augmentant leur viscosité par la production de polysaccharides, composés de galactose, de glucose et de petites quantités de rhamnose, d'arabinose et de mannose. (Mihoubi, 2019)

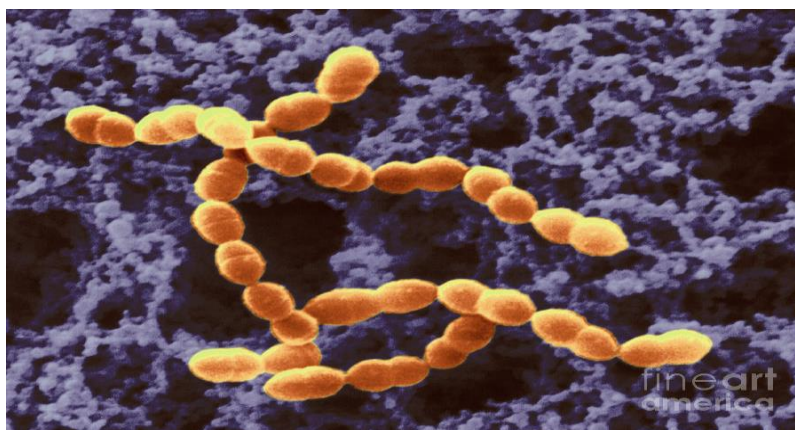


Figure 5: Streptococcus thermophilus (Terre ;1986)

II.3.2 Lactobacillus bulgaricus

Le Lb. Bulgaricus est une bactérie Gram-positive, qui se présente sous forme de bâtonnets ou de chaînes et qui ne forme pas de spores. Elle est immobile et son rôle est crucial dans la production de yaourt grâce à son métabolisme strictement fermentaire qui produit principalement de l'acide lactique à partir de sucres hexoses par la voie d'Embden-Meyerhof. Cependant, la bactérie n'a pas la capacité de fermenter les pentoses. Elle est thermophile et se développe à une température optimale d'environ 42°C grâce à la présence de calcium et de magnésium. La présence de Lb. Bulgaricus dans la préparation de yaourt est essentielle pour assurer ses qualités organoleptiques et hygiéniques. (Savadoget et al, 2011)

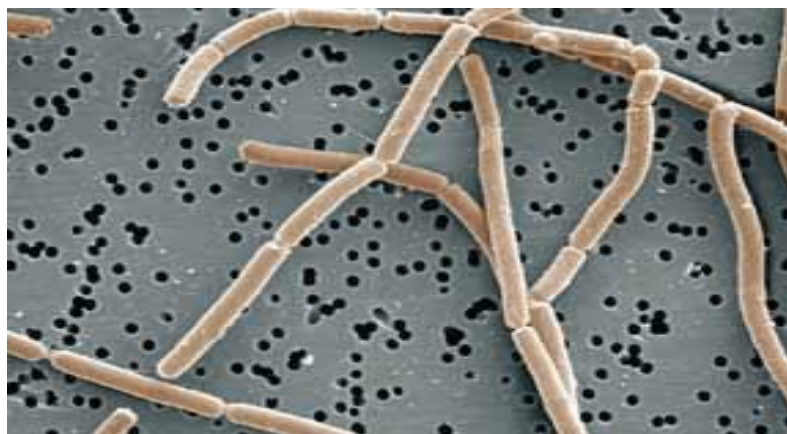


Figure 6: *Lactobacillus Bulgaricus* (Terre ;1986)

II.4 Croissance associative dans le yaourt

La relation symbiotique entre *St. thermophilus* et *Lb. Bulgaricus* est une composante cruciale du processus de fermentation pour produire du yaourt de haute qualité. Cette association renforce l'acidité, la viscosité et l'arôme du produit final. Lorsque les deux souches bactériennes sont cultivées ensemble, la production d'acide lactique est augmentée par rapport à une culture séparée. *Lb. Bulgaricus* apporte les peptides et acides aminés libres nécessaires pour la croissance de *St. thermophilus*, tandis que ce dernier stimule la croissance de *Lb. Bulgaricus* en produisant des quantités significatives d'acides pyruvique, formique, folinique et de CO₂. La production d'acide formique dépend de plusieurs facteurs tels que les souches bactériennes, le milieu de culture et la température. En outre, l'acide lactique produit par *St. thermophilus* abaisse le pH du lait à un niveau optimal pour que *Lb. Bulgaricus* prospère.

(Béal et al ;2003)

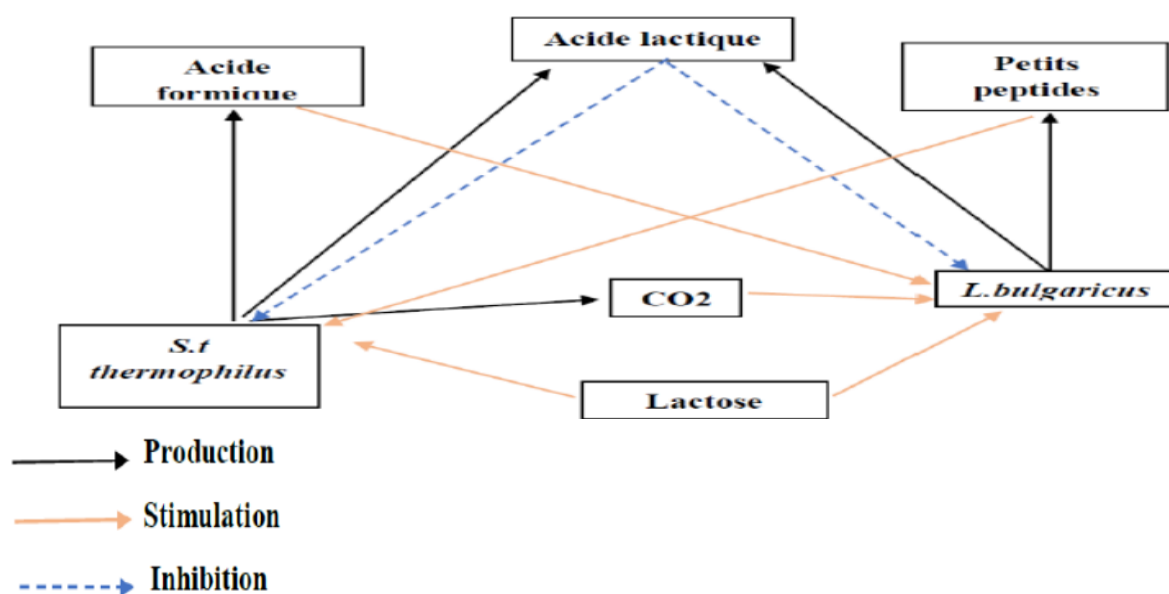


Figure 7: proto coopération entre *S. thermophilus* et *lb. Bulgaricus* (Mahout et al ;2000)

II.5 Le processus de fabrication de yaourt :

La fabrication du yaourt varie selon les types de yaourts, mais en général, elle implique plusieurs étapes principales.

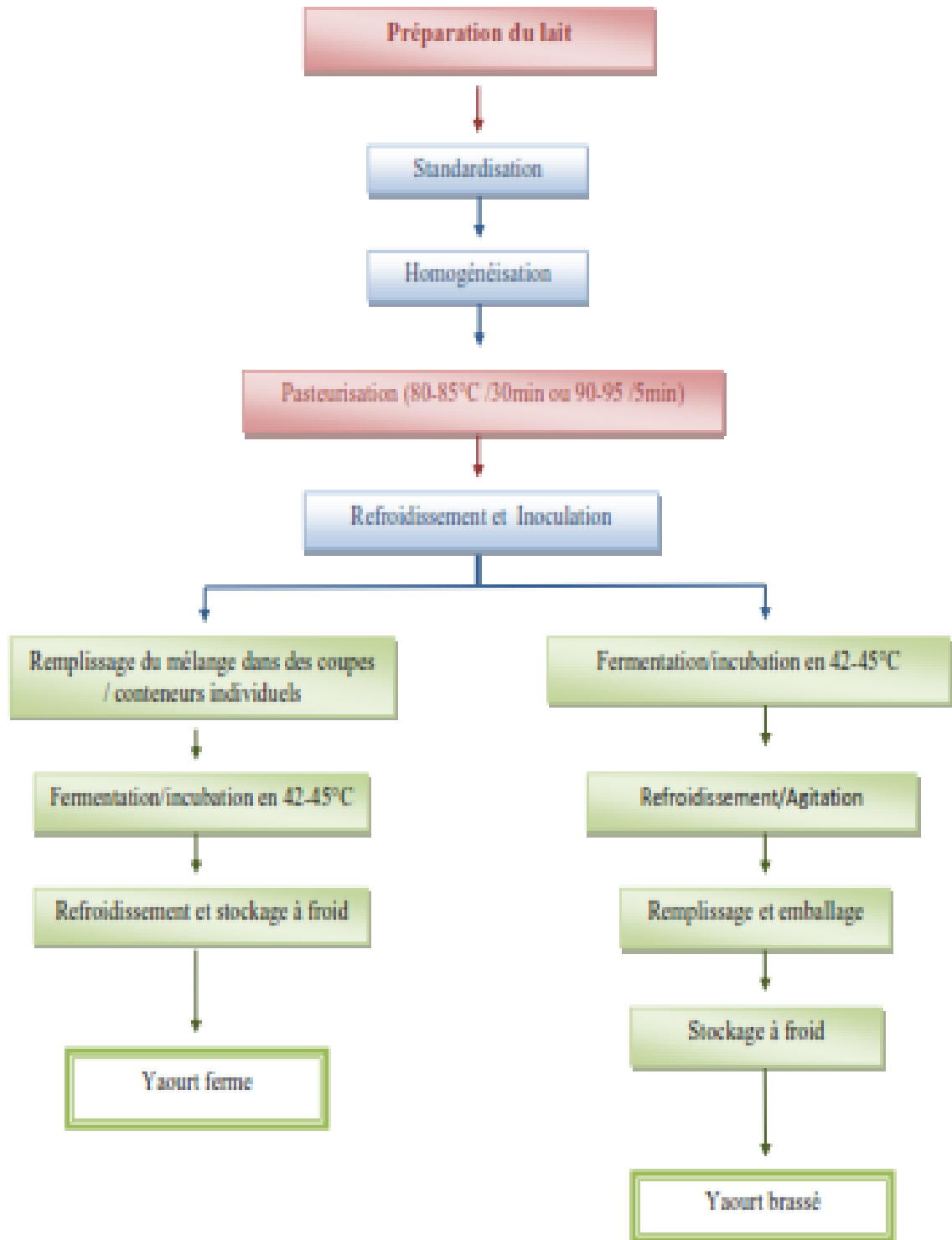


Figure 8: Processus de fabrication de yaourt : yaourt ferme et yaourt brassé (Weerathilake et al ;2014)

II.6 Valeurs nutritionnelles et intérêts thérapeutiques de yaourt

II.6.1 Valeurs nutritionnelles

Les yaourts et les laits fermentés présentent de nombreux avantages nutritionnels, notamment leur forte teneur en calcium et en vitamines, ainsi qu'un équilibre optimal de macronutriments. En outre, leur processus de fermentation leur permet de posséder des avantages supplémentaires par rapport au lait frais. **(Béal et al.2003)**

II.6.1.1 Digestibilité du lactose

La présence de bactéries lactiques vivantes dans le produit permet une meilleure assimilation du lactose chez les consommateurs présentant une déficience en lactase. C'est d'ailleurs à ce jour la seule allégation santé qui a été reconnue par l'E.F.S.A. en 2011. La lactase bactérienne est en effet toujours active lors du passage des bactéries dans le tractus intestinal, où elle peut hydrolyser le lactose résiduel contenu dans les produits (environ 30 g/L), limitant ainsi la production d'acides organiques et de gaz (CO₂, hydrogène, méthane) dans le colon du consommateur. Il est cependant établi que les bactéries doivent être vivantes dans le yaourt au moment de sa consommation pour que cette fonctionnalité soit active. **(Béal et al ; 2003)**

II.6.1.2 Digestibilité des protéines

Les bactéries lactiques vivantes dans le yaourt offrent des avantages pour les personnes souffrant d'une intolérance au lactose. En effet, l'E.F.S.A. a reconnu en 2011 que la fonctionnalité principale de ces bactéries est d'améliorer l'assimilation du lactose. Grâce à la lactase bactérienne qui reste active dans le tractus intestinal, la dégradation du lactose résiduel est possible, limitant ainsi la production d'acides organiques et de gaz dans le colon. Il est important de noter que les bactéries doivent être en vie au moment de la consommation du yaourt pour que cette fonctionnalité soit effective **(Babio ;2017)**

II.7 Intérêts thérapeutiques

Le yaourt a prouvé son efficacité dans la prévention des infections gastro-intestinales et dans le traitement des diarrhées infantiles. En effet, les bactéries présentes dans le yaourt ont des propriétés antimicrobiennes et probiotiques, ce qui les rend efficaces dans le contrôle de la croissance de certains germes pathogènes grâce à la production de peroxyde d'hydrogène et de bactériocines. Des études montrent que les bactéries du yaourt sont capables de produire des substances antagonistes qui peuvent neutraliser les effets des bactéries pathogènes.

(Tabak et Bensoltane ;2011)

II.7.1 Activité antimicrobienne :

Le yaourt joue un rôle important dans la prévention contre les infections gastro-intestinales et son intérêt dans le traitement contre les diarrhées infantiles. Les bactéries du yaourt produisent des substances antimicrobiennes. Leur pouvoir antagoniste résulte aussi de la production du peroxyde d'hydrogène et de bactériocines, limitant la croissance de certains germes pathogènes (**Tabak et Bensoltane ; 2011**)

II.7.2 Stimulation du système immunitaire

Les yaourts peuvent stimuler le système immunitaire de différentes manières. Les probiotiques présents dans les yaourts peuvent aider à renforcer la barrière intestinale, ce qui peut empêcher les bactéries nocives de pénétrer dans le corps et provoquer une infection. Les prébiotiques contenues dans les yaourts peuvent également aider à nourrir les bactéries saines dans notre intestin, ce qui peut améliorer la santé globale du système immunitaire. De plus, les yaourts sont souvent riches en nutriments tels que la vitamine D et les vitamines B, qui sont importants pour une bonne fonction immunitaire. En général, une alimentation saine et équilibrée, qui inclut des aliments tels que les yaourts, peut aider à maintenir un système immunitaire fort (**Ben Yahia ;2013**)

II.7.3 Action préventive contre les cancers de la sphère digestive

Des études ont suggéré que les lactobacilles, qui sont des probiotiques présents dans le yaourt, pourraient modifier les enzymes bactériennes impliquées dans la formation de substances précancéreuses dans le tube digestif, appelées inducteurs du cancer. Cette modification pourrait inhiber la formation de ces substances et, par conséquent, réduire le risque de cancer de la sphère digestive. (**Pierre Bourlioux et al ,2011**)



Partie
expérimentale



Chapitre 1
Matériel et méthodes

I Matériel et méthodes

I.1 Préparation de l'échantillon

La préparation de l'échantillon a été réalisée au laboratoire d'analyses biochimiques de l'université de Bouira. Cette étude s'est concentrée sur la formulation d'un yaourt enrichi en pollen, ainsi que sur l'étude de ses caractéristiques physico-chimiques. Parallèlement, la teneur en composés phénoliques et les activités antioxydantes de l'extrait de pollen ont également été déterminées

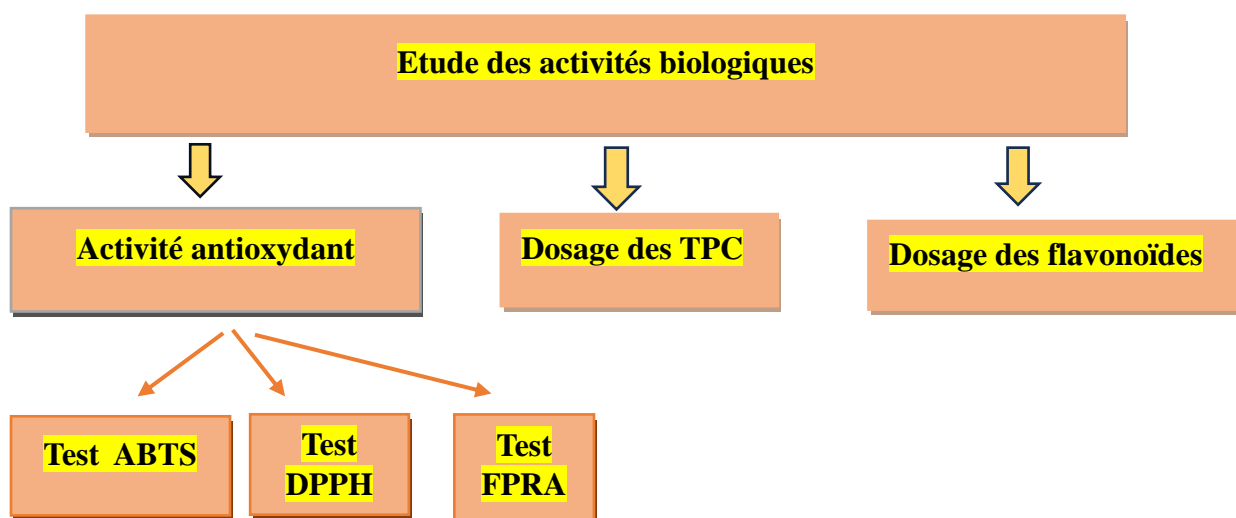


Figure 9: Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux (test de décoloration de l'ABTS, DPPH et dosage des TPC)

I.2 Matériel végétal

Nous avons mené notre étude sur le pollen d'abeilles provenant de Bouira, Ce matériel végétal a été récolté et conservé dans des flacons en verre. Avant cela, il a été séché dans une étuve à une température de 40 °C pendant 24 heures afin de réduire sa teneur en eau. Ensuite, il a été trié pour éliminer les impuretés telles que les ailes d'abeilles, la poussière etc.



Figure 10: Image des pelotes de pollen.

Le pollen a été transformé en une fine poudre en le broyant avec un moulin à café électrique de marque MAC 36. Ensuite, il a été tamisé pour obtenir une texture homogène. Cette poudre a été placée dans un flacon en verre et soigneusement conservée à l'abri de la lumière, de l'humidité et de l'air jusqu'à son utilisation ultérieure.



Figure 11: Photographie de pollen tamisée

I.3 Extraction

Pour évaluer la teneur en composés phénoliques et étudier l'activité antioxydante de la poudre de pelotes de pollen, une extraction a été effectuée :

- Nous avons mélangé 2 g de pollen avec 20 ml d'éthanol
- Ensuite, nous avons laissé agir pendant 10min
- Après cela, nous avons placé le mélange dans l'ultrason pendant 15 min à une température de 35°c



Figure 12: photographie d'un ultrason

- Le mélange est centrifugé pendant 15 min à 8000 rotations par minute, et le surnageant est récupéré
- Après avoir récupéré le surnageant ; nous l'avons transféré dans un rota vapeur pour évaporer complètement l'éthanol



Figure 13: Photographie d'une centrifugeuse

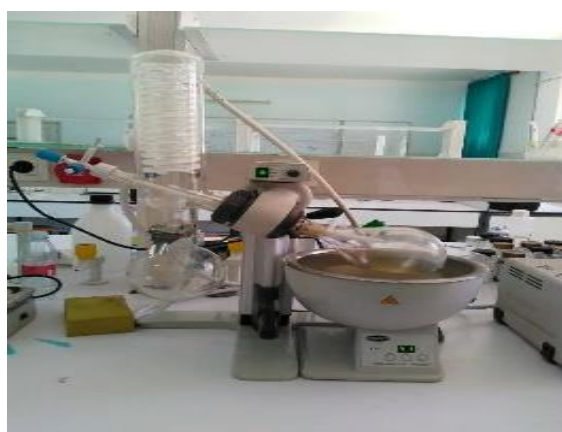


Figure 14: photographie d'un rota vapeur

Ensuite, nous avons placé l'échantillon dans un lyophilisateur afin d'obtenir un extrait sec, une fois l'extrait sec obtenu, nous avons procédé au dosage

I.3.1 Extraction assistée par ultrason

La méthode d'extraction utilisée était l'extraction assistée par ultrasons (EAU). Cette méthode vise à extraire un maximum de molécules chimiques à partir du pollen en utilisant de l'éthanol comme solvant

I.3.2 Principe

Le principe de l'extraction assistée par ultrasons repose sur l'utilisation des ondes ultrasonores, qui sont des ondes mécaniques ayant une fréquence supérieure à la limite de l'audition humaine (16 kHz). Les ultrasons peuvent se propager à travers les liquides, les solides et les gaz (Esclapez et al., 2011). Lorsqu'ils se propagent, le milieu dans lequel ils se trouvent subit une alternance de compression et de décompression, ce qui entraîne la formation de bulles. Les ultrasons induisent des variations de température et de pression à l'intérieur de ces bulles, et lorsque la taille critique est atteinte, les bulles implosent. Ce phénomène est appelé cavitation (**Mason et al., 1996**)

I.4 Calcule du rendement

I.4.1 Rendement

Le calcul du rendement s'effectue en utilisant la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \left(\frac{\text{Poids de l'extrait sec en g}}{\text{Poids de la poudre sèche de pollen en g}} \right) \times 100$$

Dans cette formule :

Rendement (%) représente le rendement d'extraction en pourcentage.

Poids de l'extrait sec en g correspond au poids de l'extrait sec obtenu.

Poids de la poudre sèche de pollen en g correspond au poids initial de l'échantillon de pollen utilisé.

I.5 Dosages des polyphénols totaux

I.5.1 Principe

Dosage des polyphénols totaux (TPC) a été réalisé en utilisant le test de Folin-Ciocalteu (FC).

Ce test repose sur la réduction d'un complexe jaune de molybdotungstane par les composés phénoliques, ce qui produit une coloration bleue. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des composés phénoliques oxydés (**Singleton et al., 1999**). Après une période d'incubation d'une heure dans l'obscurité, les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 760 nm.

I.5.2 Mode opératoire

Pour le dosage des polyphénols totaux, le mode opératoire suivi est le suivant :

Dans des tubes à essai, un volume de 0,2 ml de chaque extrait dilué dans le solvant approprié a été mélangé.

À ce mélange, 1 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 1:10 dans de l'eau distillée) a été ajouté.

Après un repos de 4 minutes, 0,8mL de la solution de Na₂CO₃ (7,5%) ont été ajoutés au mélange.

Le mélange a été homogénéisé et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes (ou 1 heure).

L'absorbance du mélange a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VISIBLE à une longueur d'onde de 765 nm.

Une gamme d'étalonnage en milieu aqueux a été réalisée avec de l'acide gallique, en suivant les mêmes conditions opératoires que pour l'extrait.

Les résultats obtenus ont été exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG / g d'extrait)

I.6 Dosage des flavonoïdes

I.6.1 Le dosage des flavonoïdes repose sur le principe suivant :

L'ajout du trichlorure d'aluminium à un extrait entraîne la formation d'un complexe jaunâtre. Cette réaction est due à la fixation des ions AlCl₃ sur les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Pour déterminer la quantité de flavonoïdes dans un extrait, il est courant d'utiliser la quercétine comme étalon de référence. La quercétine est un flavonoïde largement utilisé comme standard pour évaluer la teneur en flavonoïdes dans un échantillon (**Bahorun et al., 1996**).

I.6.2 Mode opératoire

Les échantillons ont été préparés soit dans l'eau distillée, l'éthanol 96%, ou le méthanol tout en précisant la masse pesée, puis un volume de 0,5 ml de chaque préparation a été ajoutée à 1ml de la solution d'ALCL₃ à 2% (préparé dans l'éthanol)

Après incubation pendant 1h L'absorbance a été lue à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV – visible (**Bahroune et al ,1996**), La concentration en flavonoïdes de chaque extrait a été estimée à partir d'un courbe étalon de la quercétine comme standard et préparé sous les mems conditions que l'échantillon

Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine par g d'extrait (mg EQ / d'extrait)

I.7 Evaluation de l'Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits peut être réalisée à l'aide de plusieurs tests. La plupart de ces tests se basent sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Les tests les plus couramment utilisés sont le test DPPH (radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et le test ABTS (2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate)).

I.7.1 Pouvoir réducteur (FRAP)

I.7.1.1 Principe

Le pouvoir réducteur (FRAP) est un test utilisé pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (ferricyanure de potassium) en fer ferreux (Fe^{2+}). Initialement de couleur jaune, le fer ferrique est réduit en présence d'un agent réducteur et devient bleu ou vert en absorbant un électron. Le changement de couleur du jaune au bleu ou au vert est proportionnel à l'activité antioxydante des extraits de plantes (**Habibou et al., 2019**). L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à une longueur d'onde de 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits testés est considéré comme plus élevé lorsque l'absorbance augmente (**Hubert, 2006**)

I.7.1.2 Mode opératoire

Le mode opératoire pour le test du pouvoir réducteur (FRAP) est le suivant :

Préparer une série de dilutions de chaque extrait. Dans des tubes à essai, mélanger 1 ml de chaque extrait dilué avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 9% (m/v).

Ajouter ensuite 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution de FeCl_3 à 1% à chaque tube.

Mesurer l'absorbance de chaque solution à une longueur d'onde de 700 nm en utilisant un spectrophotomètre, en prenant un blanc de référence.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de graphiques montrant les valeurs d'absorbance en fonction des différentes concentrations utilisées.

I.8 Activité antiradicalaire utilisant le DPPH

I.8.1 Principe

L'activité antiradicalaire utilisant le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) repose sur le principe suivant :

Cette méthode se base sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre DPPH. L'antioxydant peut réagir avec le radical DPPH en libérant un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle ou en libérant un électron (Cristina et al., 2009). Le radical DPPH a une absorption maximale mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 515 nm, et sa neutralisation par un antioxydant peut être facilement suivie par spectrophotométrie UV/visible (Mishra et al., 2012).

I.8.2 Mode opératoire

Le mode opératoire pour l'activité antiradicalaire utilisant le DPPH est le suivant :

Préparer une solution de DPPH en dissolvant 2,4 mg du réactif dans 100 ml d'éthanol absolu (99,8%).

Préparer une série de dilutions pour chaque extrait.

Dans des tubes à essai, homogénéiser 0.5 ml de chaque dilution d'extrait avec 9.5 ml de la solution de DPPH.

Incuber le mélange à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 minutes.

Mesurer l'absorbance du mélange à une longueur d'onde de 517 nm en utilisant un spectrophotomètre.

Les résultats obtenus sont exprimés en fonction de l'absorbance mesurée et peuvent être comparés à un blanc pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits (Djerrad et al ;2015).

L'activité antioxydante de chaque extrait a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(\text{Abs c} - \text{Abs e}) / \text{Abs c}] * 100$$

où :

Abs c représente l'absorbance du contrôle, c'est-à-dire l'absorbance du DPPH sans aucun échantillon.

Abs e représente l'absorbance de la solution de DPPH en présence de l'échantillon.

Le blanc utilisé dans cette équation est l'éthanol absolu, qui sert de référence pour la mesure de l'activité antioxydante.

Les valeurs de l'activité antiradicalaire exprimées en pourcentage d'inhibition peuvent être comparées avec les IC50 obtenus en utilisant trois antioxydants standards : l'acide gallique, l'acide ascorbique et la quercétine. Ces comparaisons sont effectuées en utilisant les mêmes conditions expérimentales.

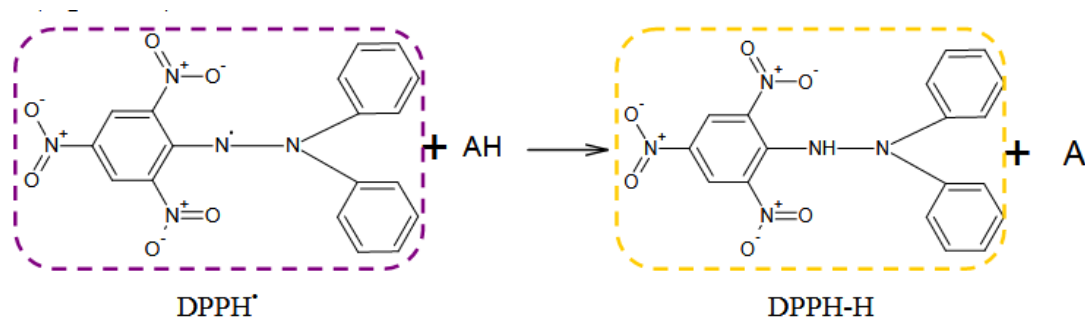


Figure 15: Le mécanisme réactionnel qui se produit lors du test DPPH• entre le radical DPPH• et un antioxydant (AH) a été représenté dans l'étude réalisée par Michel en 2011.

I.9 Pouvoir antiradicalaire ABTS

I.9.1 Principe

Le pouvoir antiradicalaire ABTS est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cation ABTS^{•+} de couleur verte-bleue en le transformant en ABTS incolore. Ce radical est préformé en présence d'ions persulfate. En présence d'un antioxydant, le radical ABTS^{•+} est converti en une forme non radicalaire, entraînant la disparition de la coloration intense verte-bleue. La mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 734 nm permet de suivre ce changement. Ce test est simple, pratique, reproductible et peut être réalisé dans divers milieux.

Le pourcentage de réduction est calculé selon la formule suivante :

- ✓ Activité antiradicalaire ABTS (%) = $[(\text{Abs c} - \text{Abs e}) / \text{Abs c}] \times 100$
- ✓ Abs c représente l'absorbance du contrôle.
- ✓ Abs e représente l'absorbance de l'échantillon.

I.9.2 Mode opératoire

Le test ABTS a été réalisé en suivant la méthode décrite par **(Re et ses collaborateurs ;1999)**. Deux solutions ont été préparées : une solution d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium (2,4 mM). Le radical cationique ABTS^{•+} a été généré en mélangeant ces deux solutions en quantités équivalentes. Le mélange a été laissé réagir pendant 12 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, 1 ml de la solution obtenue a été dilué avec 60 ml d'éthanol de manière à obtenir une absorbance de 0,8, qui a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 734 nm.

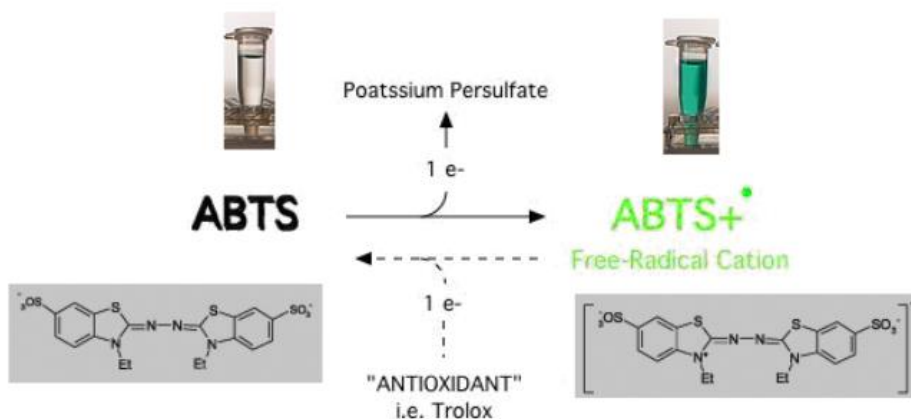


Figure 16: Réaction de l'ABTS• avec des composés antioxydants (Boligon et al., 2014)

I.10 Enrichissement du yaourt avec le pollen :

Le yaourt utilisé est un yaourt nature de la marque SOUMMAM, achetés commercialement, l'enrichissement a été réalisé en utilisant différentes concentrations de pollen, comme indiqué ci-dessous :

Tableau II: les quantités de l'extrait de pollen incorporés dans le yaourt nature

| | Marque de Yaourt utilisé | Nature | Concentrations de l'extrait de pollen |
|------------------|--------------------------|---------|---------------------------------------|
| Echantillon (Et) | Soummam | Naturel | 0 % de l'extrait |
| Echantillon (E1) | Soummam | Naturel | 0,5% de l'extrait |
| Echantillon (E2) | Soummam | Naturel | 1% de l'extrait |
| Echantillon (E3) | Soummam | Naturel | 2% de l'extrait |



Avant l'enrichissement



après l'enrichissement

Figure 17: photographie de yaourt enrichi et non enrichi

I.10.1 Extraction

Afin de quantifier les composés phénoliques et d'étudier l'activité antioxydante du yaourt enrichi en pollen, une extraction a été effectuée.

Chaque échantillon de yaourt (10g) a été dilué avec de l'eau distillée(2,5mL)

- ✓ Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 8000 rt pendant 30 min
- ✓ Le surnageant a été récolté et filtré à travers un filtre à membrane en polypropylène de 0,45 µm
- ✓ L'extraction a été réalisée en triple sur différents pots
- ✓ Les extraits obtenus ont été conservés à 4°C jusqu'à l'analyse ultérieure

I.11 Analyses physicochimiques

I.11.1 Teneur en cendres :

I.11.1.1 Principe :

La teneur en cendres correspond à la quantité de résidu minéral laissé après la combustion de la matière organique. La méthode de calcination par voie sèche consiste à placer l'échantillon dans un four à haute température pour détruire la matière organique et obtenir un résidu minéral (cendres) de couleur grise, claire ou blanchâtre (**Afnor ;1982**).

I.11.1.2 Mode opératoire :

Une quantité de 5 g de pollen est pesée dans un creuset en porcelaine préalablement pesé à vide. Le creuset contenant le pollen est ensuite placé dans un four à moufle réglé à 600°C pendant cinq heures, permettant ainsi la combustion complète de la matière organique. Après la combustion, le creuset est retiré du four et refroidi dans un dessiccateur. Ensuite, le creuset est pesé à nouveau.

La teneur en cendres est calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Teneur en cendres (\%)} = (M1 - M2) / M$$

où :

M : poids de la prise d'essai (

M1 : poids du creuset après incinération (en grammes).

M2 : poids du creuset vide (en grammes).

I.11.2 L'humidité

Dans une capsule en porcelaine préalablement séchée et tarée, introduire 3 g de l'échantillon de pollen à analyser. Placer la capsule dans une étuve réglée à 105°C pendant 24

heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, peser le pollen. Remettre la capsule contenant le pollen dans l'étuve pendant 1 heure supplémentaire, puis procéder à une nouvelle pesée. Répéter cette opération jusqu'à obtenir un poids constant.

I.11.3 Mesure du pH

Le pH est une mesure de l'activité des ions H⁺ présents dans une solution. Pour mesurer le pH du yaourt enrichi au pollen, une sonde d'un pH-mètre (**Nf v 05-108 ;1970**) est utilisée. La sonde du pH-mètre est directement immergée dans le yaourt, et la valeur du pH est affichée directement sur l'écran du pH-mètre

I.11.4 Mesure de l'acidité titrable

L'acidité du yaourt est exprimée en degrés Dornic (°D), qui correspond à la quantité d'acide lactique présente dans le yaourt. Pour la déterminer, un titrage acidobasique du yaourt analysé a été effectué en utilisant une solution basique de NaOH. Deux à trois gouttes de phénolphtaléine ont été ajoutées, puis le mélange a été titré avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) (1N) jusqu'à ce que la couleur vire au rose, qui persiste pendant quelques secondes (**Nf v 04-206, 1969**).

Expression des résultats

La mesure de l'acidité titrable est calculée selon la formule suivante :

$$^{\circ}\mathbf{D} = (\mathbf{N.V.100}/20)$$

N : Normalité de NaOH

V : Volume de NaOH titré (mL)

100 : Masse molaire de l'acide lactique (g/mol)



Chapitre II
Résultats et
discussions

II Résultats et discussions

II.1 Le Rendement

Le rendement de l'extraction du pollen a été calculé à 38%, en utilisant de l'éthanol à 98% comme solvant. Ce résultat est légèrement inférieur à celui obtenu par **Solange et al ; 2007**, qui ont rapporté un rendement de 40%.

Cette différence peut s'expliquer par l'utilisation de solvants différents, des méthodes d'extraction différentes, le pH du milieu d'extraction, la température et les différentes origines géographiques du pollen.

Des études menées par **Zadernowski et al ; 2005**, ont également montré que de telles différences peuvent être attribuées à des paramètres choisis lors de l'extraction, tels que la polarité du solvant utilisé, qui joue un rôle crucial dans l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques.

De plus, ces variations peuvent être influencées par des facteurs agroécologiques, génétiques et les méthodes spécifiques d'extraction utilisées. Certains chercheurs suggèrent également que les conditions météorologiques et l'emplacement géographique de la culture (nord ou sud) pourraient avoir une incidence sur les concentrations finales de composés phénoliques obtenues.

II.2 Les cendres

L'expression "cendres totales" fait référence à la partie inorganique d'un échantillon alimentaire qui reste après incinération à 600 °C. Ce résidu contient des oligo-éléments tels que le calcium, le phosphore, le sodium, le potassium, le magnésium et le manganèse.

La teneur en cendres des pollens étudiés est de 6%. Cette valeur est plus élevée que celle rapportée par **Human et al., (2006)**, qui est de 3,6%, ainsi que par **Feás et al, (2012)**, qui est de 2,9%

II.3 L'humidité

La teneur en eau du pollen est un indicateur de sa qualité, car elle affecte plusieurs aspects du produit, tels que sa conservation, son goût et son arôme (**Morgano et al., 2011**).

Ce paramètre joue un rôle important dans la promotion ou l'inhibition du développement des microorganismes dans les aliments.

En effet, un taux d'humidité élevé crée un environnement propice à la multiplication des bactéries responsables de l'altération. Le pollen d'abeille est connu pour être un matériau très hygroscopique, ce qui le rend sensible à la croissance microbienne et fongique (**Bleha, 2019**).

Nos résultats montrent un taux d'humidité de 12,8%, qui est inférieur à celui rapporté par (Zuluaga ;2015) qui est de 32%.

Un taux d'humidité élevé favorise l'altération de l'aliment, et donc pour préserver la qualité du pollen, deux techniques de conservation sont souvent utilisées : la congélation et le séchage (déshydratation). Ces méthodes permettent de réduire la teneur en eau du pollen et ainsi prolonger sa durée de conservation.

II.4 Dosage des antioxydants d'extrait de pollen

II.4.1 Teneurs en polyphénols totaux

Le dosage de l'extrait de pollen a révélé une concentration de 17,62 mg EGA/g (équivalent acide gallique) par gramme. Cette teneur est inférieure aux résultats rapportés par (Mayda et al) qui ont trouvé une teneur en composés phénoliques totaux (TPC) de 26,69 mg EAG /g (équivalent acide gallique) par gramme.

Une autre étude portant sur le pollen d'abeille a également signalé une variation du TPC entre 12,9 et 19,8 mg GAE /g (équivalent acide gallique) par gramme, ce qui englobe la teneur obtenue dans nos résultats.

Il est important de noter que ces composés phénoliques sont les principes actifs présents dans de nombreuses plantes médicinales. Même à des concentrations faibles, ces molécules ont un impact direct sur la qualité nutritionnelle des produits alimentaires. Leur présence dans le yaourt enrichi en extrait de pollen peut contribuer aux effets bénéfiques pour la santé.

Tableau III: Résultats des teneurs du pollen en antioxydants

| Antioxydantes | Teneure |
|---------------|----------------------|
| Polyphénols | 17.26 ±0,02 mg EAG/g |
| Flavonoïdes | 8.35 mg±0,01mg EQ /g |

Teneurs en flavonoïdes

Comme indiqué dans le tableau 3, la teneur en flavonoïdes du pollen étudié est supérieure à celle obtenue par (Mayda et al) Dans leur étude sur quelques échantillons de pollen, qui était de 3,74 mg QE /g (quercétine équivalente) par gramme.

En revanche, ces résultats sont proches de ceux obtenus par (Feás et al ; 2012,) qui ont montré des teneurs de 7,1 mg QE/g.

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des végétaux et jouent un rôle crucial dans la protection des tissus végétaux contre les agressions externes, comme cela a été souligné par (**Hardi ;2015**).

Ils sont également considérés comme des antioxydants puissants capables d'éliminer les radicaux libres, selon (**Narayana et al ;2001**)

De plus, les TFC (total flavonoïde content) sont connus pour leur capacité à chélater les ions métalliques, comme l'ont démontré(**Kumar et Pandey ;2013**).

Ainsi, la teneur élevée en flavonoïdes dans le pollen étudié suggère la présence de ces composés bénéfiques dans le yaourt enrichi en extrait de pollen

II.4.1.1 Discussion

Effectivement, les différences observées dans les valeurs de TPC (polyphénols totaux) et de TFC (flavonoïdes totaux) entre notre étude et les études antérieures peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. Tout d'abord, l'origine de la plante étudiée peut jouer un rôle important, car les plantes peuvent présenter une variation naturelle de leur composition phénolique en fonction de leur espèce, de leur variété et de leur environnement de croissance.

De plus, les méthodes d'extraction et les solvants utilisés peuvent également influencer les résultats. Différentes méthodes d'extraction, telles que l'extraction par solvant, l'extraction par ultrasons, l'extraction par macération, peuvent être utilisées, et chacune de ces méthodes peut entraîner des rendements différents en termes d'extraction de composés phénoliques. De même, le choix du solvant d'extraction peut influencer la solubilité et l'efficacité d'extraction des polyphénols et des flavonoïdes.

Il convient également de noter que les techniques analytiques utilisées pour la quantification des composés phénoliques peuvent varier d'une étude à l'autre. Différentes méthodes de dosage, telles que la spectrophotométrie, la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ou la chromatographie en phase gazeuse (GC), peuvent être utilisées, et chaque méthode peut fournir des résultats légèrement différents.

En résumé, les variations dans les valeurs de TPC et de TFC entre notre étude et les études antérieures peuvent être attribuées à la diversité des facteurs, tels que l'origine de la plante, les méthodes d'extraction, les solvants et les techniques analytiques utilisées. Il est important de prendre en compte ces facteurs lors de la comparaison des résultats entre différentes études.

II.5 Evaluation de l'activité antioxydante

II.5.1 Activité antioxydant DPPH

Les résultats obtenus dans le test DPPH indiquent une activité antiradicalaire élevée de l'échantillon de pollen analysé. Une réduction de 65,31% du radical DPPH a été observée, ce qui suggère la présence de composés antioxydants dans l'échantillon. Cette activité antiradicalaire est supérieure à celle rapportée par (Kroyer et al ;2001) (53%), ce qui confirme la richesse de notre échantillon en polyphénols et flavonoïdes, connus pour leur potentiel antioxydant.

De plus, la valeur d'IC50 (concentration à laquelle 50% de l'activité antioxydante est inhibée) a été déterminée à $6,411 \pm 0,046$ mg/ml. Une valeur d'IC50 plus faible indique une activité antioxydante plus élevée, ce qui suggère que l'échantillon de pollen présente une bonne capacité à neutraliser les radicaux libres.

Il est également souligné que la méthode d'extraction par ultrasons utilisée dans notre étude s'est révélée efficace pour extraire les composés antioxydants du pollen. Cette méthode d'extraction peut permettre une meilleure récupération des polyphénols et flavonoïdes, contribuant ainsi à l'activité antioxydante observée.

En conclusion, les résultats du test DPPH montrent une forte activité antiradicalaire de l'échantillon de pollen, suggérant la présence de composés antioxydants bénéfiques. Ces résultats mettent en évidence le potentiel du pollen enrichi dans le yaourt comme source d'antioxydants naturels.

Tableau IV: Résultats des tests antioxydantes

| Activité antiradicalaire | Pourcentage d'inhibition |
|--------------------------|--------------------------|
| Radical DPPH | 65,31 \pm 1,05 % |
| Radical ABTS | 83 ,80 \pm 0,23% |
| Pouvoir réducteur FRAP | 0,70 \pm 0,01 mg /ml |

II.5.2 Activité antiradicalaire ABTS

Les résultats obtenus dans le test d'activité antiradicalaire ABTS confirment la forte capacité antioxydante de l'échantillon de pollen analysé. L'activité antiradicalaire de

l'échantillon, mesurée à 83,80%, indique une réduction quasi complète des radicaux ABTS. Comparé aux résultats de l'étude de (Zuluoga et al ; 2015) où une activité antiradicalaire de 43% a été rapportée, nos résultats démontrent une activité antioxydante nettement supérieure.

Il convient de souligner que différents facteurs peuvent influencer les résultats de l'activité antioxydante, tels que la variété de pollen, les méthodes d'extraction et les conditions expérimentales. Dans notre étude, nous avons utilisé une méthode d'extraction par ultrasons, ce qui peut contribuer à une meilleure récupération des composés antioxydants du pollen.

Ces résultats soutiennent l'idée que le pollen est riche en antioxydants et confirment la valeur nutritionnelle et thérapeutique du yaourt enrichi en extrait de pollen. L'activité antioxydante élevée de notre extrait éthanolique de pollen suggère que ce yaourt peut offrir des bénéfices potentiels pour la santé en raison de sa capacité à piéger les radicaux libres et à réduire le stress oxydatif.

II.5.3 Pouvoir réducteur FRAP

Les résultats du test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) confirment la capacité réductrice de l'échantillon de pollen analysé. La capacité réductrice mesurée à $0,70 \pm 0,01$ mg/ml est similaire à celle rapportée par (Maksimovic et al ; 2005) qui variait entre $0,79 \pm 0,005$ mg/ml et $1,6 \pm 0,005$ mg/ml.

La capacité réductrice des échantillons peut varier en fonction des composés phénoliques présents, qui sont responsables de l'activité antioxydante. La présence de ces composés phénoliques dans l'extrait de pollen utilisé dans notre étude indique sa richesse en antioxydants et son potentiel antioxydant.

Ces résultats suggèrent que le yaourt enrichi en extrait de pollen peut offrir des avantages pour la santé en raison de sa capacité réductrice élevée. Les composés phénoliques présents peuvent contribuer à l'activité antioxydante du yaourt, ce qui peut aider à réduire le stress oxydatif et à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres.

II.6 L'analyse physico- chimique de yaourt enrichi

II.6.1 PH

L'analyse du pH du yaourt enrichi est une étape importante pour évaluer sa qualité organoleptique. Le pH peut avoir un impact sur la texture, le goût et la stabilité du yaourt.

Dans notre étude, les valeurs de pH obtenues pour les concentrations de pollen de 0,5 %, 1 % et 2 % étaient respectivement de 4,34, 4,39 et 4,43. Ces valeurs se situent dans la

plage rapportée par l'étude de (Jimoh et Kolapo ; 2007), qui indiquait des valeurs de pH allant de 3,39 à 5,68 pour le yaourt.

La correspondance des valeurs de pH obtenues dans notre étude avec celles rapportées dans la littérature suggère que le yaourt a subi une incubation adéquate et contenait une quantité satisfaisante de ferments lactiques pour atteindre ces valeurs.

Une différence a été observée entre le pH du yaourt avant l'enrichissement en pollen, qui était de 4,5, et celui du yaourt enrichi, qui était de 4,43, 4,39 et 3,43 respectivement. Cette diminution du pH peut être attribuée à l'ajout de pollen, car certaines études, telles que celle de (Campos et al ; 2008), ont montré que le pollen avait un effet acidifiant.

Il est important de noter que des variations de pH peuvent avoir des implications sur la stabilité et la durée de conservation du yaourt enrichi en pollen. Cependant, dans les limites des valeurs rapportées, les variations observées dans notre étude sont considérées comme acceptables et cohérentes avec l'ajout de pollen.

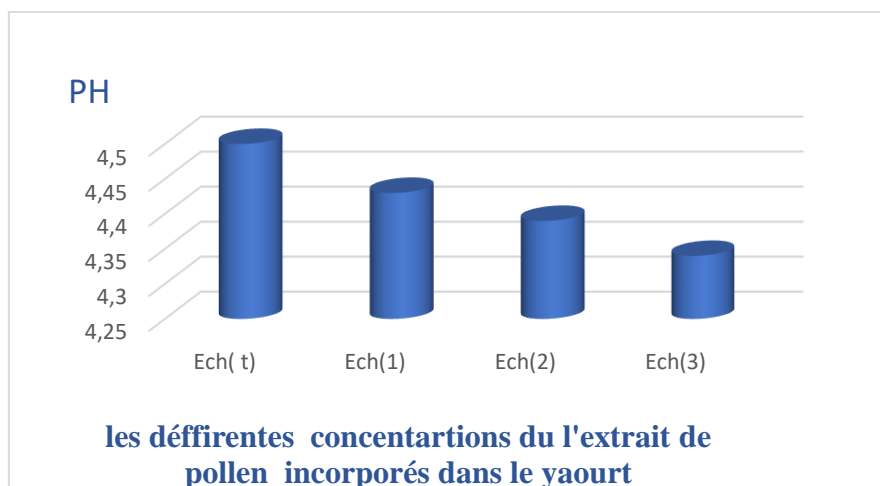


Figure 18: histogramme présente les valeurs de ph du yaourt enrichi

II.6.2 Acidité titrable

Les résultats révèlent que les yaourts contenant du pollen d'abeille ajouté présentent une acidité titrable faible, comme indiqué dans le tableau

Tableau V: l'acidité titrable du yaourt additionné de pollen d'abeille

| Echantillons | Acidité titrable |
|---------------------------------|------------------|
| Contrôle | 60 |
| Echantillon avec 0.5% de pollen | 61.00 |
| Echantillon avec 1 % de pollen | 63.00 |
| Echantillon avec 2 % de pollen | 65 .00 |

Cette observation pourrait être attribuée à l'effet inhibiteur du pollen d'abeille sur l'activité des bactéries lactiques telles que *Streptococcus Thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, perturbant ainsi le processus de fermentation lactique.

Ces résultats sont en accord avec les études antérieures (Lomova et al ; 2014) (Maksimov et al., 2016) disponibles dans la littérature.

II.7 Dosages des antioxydants du yaourt enrichi au pollen

II.7.1 Flavonoïdes

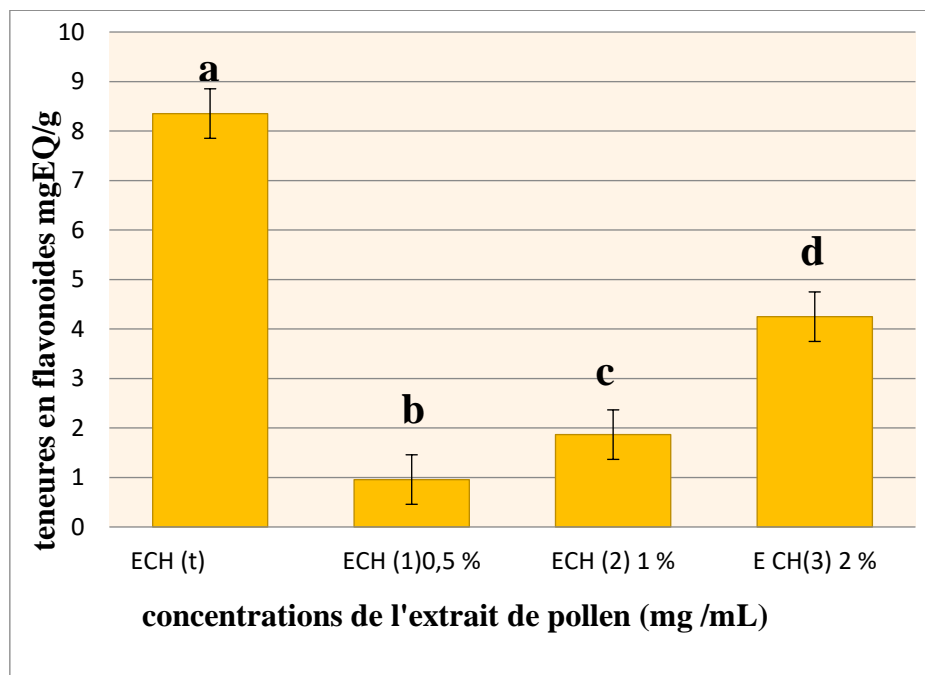


Figure 19: la teneur en flavonoïdes dans le yaourt enrichi

Les résultats de la figure démontrent de manière évidente que l'ajout d'extrait de pollen conduit à une augmentation significative de la concentration en flavonoïdes à mesure que la concentration en TFC augmente.

On observe une augmentation de la concentration en flavonoïdes, passant de 0,95 mg EQ/g à l'échantillon 1 à 4,24 mg EQ/g à l'échantillon 4.

Ainsi, plus la concentration de pollen est élevée, plus le taux de flavonoïdes augmente. Ces résultats indiquent clairement que le pollen est une source riche en flavonoïdes.

II.7.2 Les polyphénols

Les résultats de notre étude montrent une augmentation des concentrations de polyphénols avec l'augmentation des concentrations de pollen. L'échantillon 1 (0,5%) présente une valeur de 6,67 mg EAG/g, tandis que l'échantillon 4 (2%) présente une valeur de 16,20

mg EAG/g. Il est intéressant de noter que l'échantillon 4 à 2% présente un taux de polyphénols similaire à celui du témoin (pollen) avec des valeurs de 16,24 mg EAG/g et 17,26 mg EAG/g respectivement.

Cette augmentation peut être expliquée par la libération progressive des polyphénols, qui sont liés aux protéines du lait. Les protéines du lactosérum ont la capacité de se lier à différents types d'agents, tels que les polyphénols présents dans le pollen.

Cette liaison entraîne la formation de complexes solubles. La dégradation progressive des protéines du lait libère les composés phénoliques, ce qui explique l'augmentation significative des polyphénols observée suite à l'ajout de l'extrait de pollen (**Oliveira et al ;2015**)

Ces résultats suggèrent que l'ajout d'extrait de pollen peut être bénéfique pour augmenter la teneur en polyphénols dans un échantillon. Les polyphénols sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et leurs bienfaits pour la santé. Par conséquent, l'utilisation d'extrait de pollen pourrait être une stratégie intéressante pour améliorer la valeur antioxydante des produits laitiers.

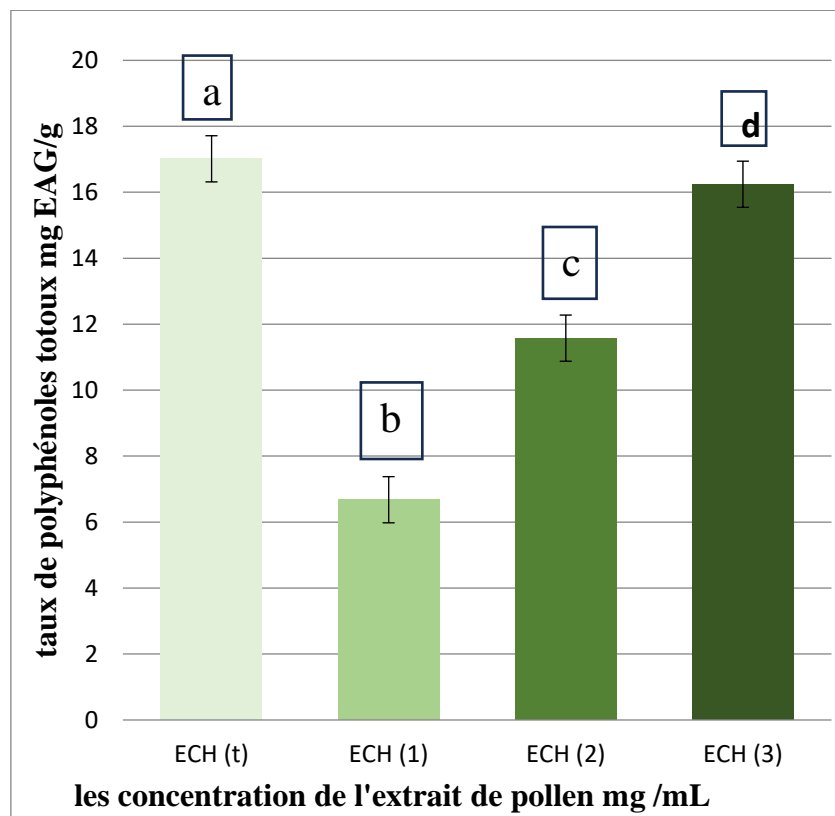


Figure 20: la teneur en polyphénols dans le yaourt enrichi

II.8 L'activité antiradicalaire DPPH

L'ajout de l'extrait de pollen entraîne une augmentation de l'activité antiradicalaire du yaourt enrichi à 70 % par rapport à l'activité antiradicalaire du pollen seule qui était de 65 %.

Cette observation est cohérente avec les études menées par (Hong et al ; 2020) sur le yaourt enrichi en jus de paprika, qui a également conduit à une augmentation de l'activité antiradicalaire, ainsi que par (Lee et al ;2021) sur le yaourt enrichi en extrait de Ginseng, où l'activité antiradicalaire a augmenté.

Cette augmentation de l'activité antiradicalaire est en partie attribuable aux composés phénoliques présents dans l'extrait de pollen. De plus, (Sah et al ;2014) ont rapporté que lorsque le degré d'hydrolyse des protéines du lait augmentait, l'effet antioxydant, tel que l'activité de piégeage des radicaux DPPH et ABTS, augmentait également.

La valeur d'IC₅₀ (concentration à laquelle 50% de l'activité antioxydante est inhibée) a été déterminée à $6,264 \pm 0,036$ mg/ml.

De plus, il a été constaté que l'IC₅₀ de l'activité antiradicalaire du yaourt enrichi est inférieure à celle de l'extrait, avec une activité antioxydante supérieure à celle de l'extrait, avec des valeurs respectives de 70% et 65%.

Ainsi, une diminution de l'IC₅₀ de l'activité antiradicalaire indique une plus grande capacité antioxydante, et donc une moindre concentration de la substance est nécessaire pour neutraliser une quantité donnée de radicaux libres.

En d'autres termes, une IC₅₀ plus basse suggère une capacité accrue à neutraliser les radicaux libres, ce qui témoigne de la bonne capacité de l'échantillon de pollen à remplir cette fonction.

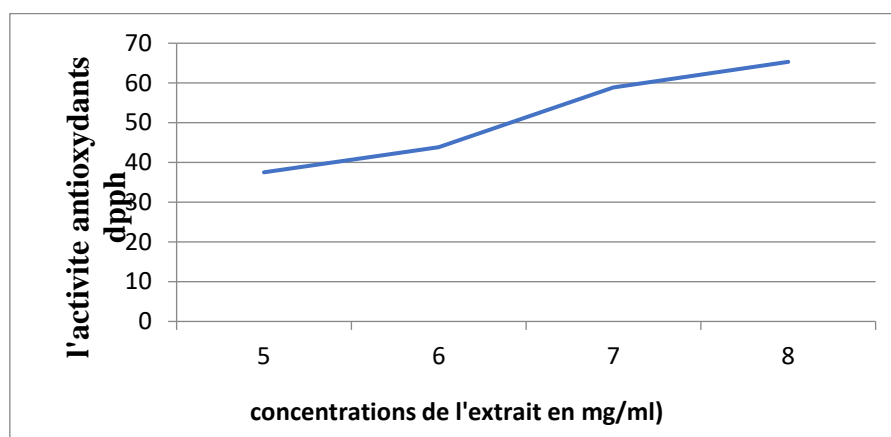


Figure 21: l'activité anti radicalaire DPPH de pollen

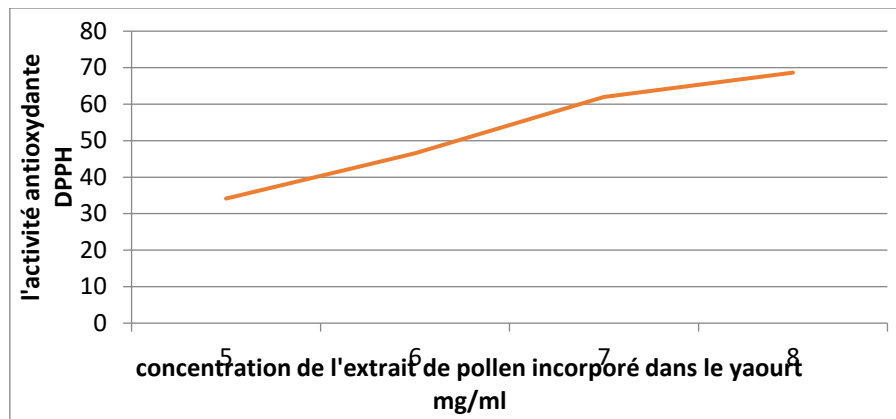


Figure 22: évaluation de l'activité anti radicalaire DPPH dans le yaourt enrichi

Discussion des résultats d'activité antioxydante de pollen en générale

Après avoir examiné nos résultats ainsi que d'autres recherches, nous pouvons conclure qu'il existe une corrélation dans la capacité antioxydante du pollen, qui présente une activité intéressante. Cependant, cette activité peut varier en fonction de nombreux facteurs.


Il a été établi que l'activité antioxydante est positivement liée à la structure des polyphénols. En général, les polyphénols possèdent une activité antioxydante élevée en raison du grand nombre de groupes hydroxyles présents dans leur structure. Ces groupes hydroxyles ont la capacité de fournir des protons pour stabiliser et neutraliser les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyle, superoxyde, peroxyde et alkoxydes (Lu et al ; 2010).

Selon les recherches menées par (Do et al ;2014), la technique d'extraction joue un rôle crucial dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques présents dans les matières végétales. Les solvants d'extraction les plus couramment utilisés sont traditionnellement l'eau et l'alcool éthylique.

Les travaux de (Su et al ;2006) ont démontré que la récupération des polyphénols et d'autres composés antioxydants présents dans les matières végétales dépend fortement de la solubilité de ces composés dans un solvant spécifique, ainsi que de la polarité, de la viscosité et du pH du solvant. D'autres facteurs tels que la taille des particules, la présence de substances interférentes, le type de solvant, la température, le temps d'extraction et le rapport de mélange jouent également un rôle important dans l'efficacité de l'extraction (Hayat et al ;2009).

Il est donc essentiel de prendre en compte ces facteurs lors de l'évaluation de l'activité antioxydante du pollen et de comparer les résultats obtenus dans différentes études. Les différences observées dans les activités antioxydantes du pollen peuvent être attribuées à ces variations dans l'origine de la plante, les solvants d'extraction utilisés, les conditions

d'extraction et d'autres paramètres expérimentaux. Par conséquent, il est important de normaliser ces facteurs pour obtenir des résultats comparables et fiables.



*conclusion
générale*

Conclusion

Cette étude menée sur le pollen d'abeille cultivé dans la région de Bouira en Algérie avait pour objectif de mettre en évidence les valeurs de ce produit et de réaliser une étude phytochimique approfondie. Les métabolites secondaires du pollen ont été extraits à l'aide d'un solvant éthanol à 80% en utilisant la technique de l'extraction assistée aux ultrasons.

Les extraits obtenus ont ensuite été utilisés pour quantifier les polyphénols totaux et les flavonoïdes, ainsi que pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de pollen. Les tests réalisés, tels que le test du radical DPPH, le test ABTS et le pouvoir réducteur, ont révélé une capacité antioxydante intéressante des extraits de pollen.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de pollen a démontré que ce type de pollen présente un intérêt nutritionnel important et peut être considéré comme un complément alimentaire de qualité. L'enrichissement du yaourt avec l'extrait de pollen s'est avéré être une méthode très intéressante pour améliorer sa qualité nutritionnelle et thérapeutique. De plus, cela permet de masquer le goût désagréable du pollen, facilitant ainsi sa consommation. .

Les résultats obtenus ont révélé une teneur significative en polyphénols totaux (17,26 mg EGA/g) et en flavonoïdes (8,35 mg EQ/g), ainsi qu'une activité antiradicalaire élevée mesurée par les tests DPPH ($65,31 \pm 1,05\%$) et ABTS ($83,80 \pm 0,23\%$).

En résumé, l'enrichissement du yaourt avec l'extrait de pollen offre une opportunité de créer un produit alimentaire plus nutritif et bénéfique pour la santé. Cela permet également de bénéficier des propriétés du pollen sans avoir à le consommer directement, ce qui peut être une alternative attrayante pour les personnes souhaitant profiter des avantages du pollen.

Perspectives

- Il serait intéressant d'approfondir les analyses physico-chimiques du pollen et du yaourt afin d'obtenir plus de données détaillées.
- Il serait pertinent d'étudier d'autres organes de la plante si l'objectif est la caractérisation variétale du pollen.
- Il serait pertinent d'explorer l'identification d'autres métabolites secondaires en utilisant différentes techniques et solvants d'extraction, ce qui pourrait fournir une compréhension plus complète de la composition chimique du pollen et de ses propriétés.



*Référence
bibliographique*

List des références

A

1. AGRILISA, Consulté le 13 mars 2017,
2. http://www.agrilisa.com/Boutique/tabid/64/ProdID/41092/TRAPPE_A_POLLEN_DT10.asp
3. Alami ouahabi, H. Fabrication du yaourt : Influence et role des ferments lactiques dans la transformation du lait au yaourt.(2008), Ecole Nationale d'industrie laitière , des analyses Biotechnologiques et de l'eau France
4. Almeida-Muradian L.B., Lucila C., Pamplona, Silvia C., Ortrud M. B. (2005). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. Journal of Food Composition and Analysis 18, 105-111
5. Ares A M., Valverde S., Bernal JL., Nozal M J. et Bernal J., (2018). Extraction and Determination of bioactive compounds from bee pollen. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analyses : 147. 110–124.
6. AFNOR, 1982. Recueil de normes Françaises des produits dérivés des fruits et légumes et jus de fruits. Ed. AFNOR. Pp, 1-325

B

7. BLANC M (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat pharmacie de limoges. Faculté de médecine et de pharmacie, pp .2
8. Bleha R ; Shevtsova T ; Kružik V ; Brindza J ; Sinica A. (2019). Morphology, physicochemical properties and antioxidant capacity of bee pollens. Czech J. Food Sci. 37 ; 1–8.
9. Ben Yahia, L. (2013) Etude du dialogue hôte /bactéries lactiques du yaourt chez des rates gnotobiotiques Microbiologie et parasitologie. Agro paris Tech. Français. [https://pastel.archives – ouvertes. Fr/Pastel-00780715](https://pastel.archives-ouvertes.fr/Pastel-00780715).
10. Bourlioux, P., Braesco, V., Mater, D. (2011). Yaourts et autres laits fermentés. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 46(6), 305-314

11. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., Pinkas, M., & ; Battez-Lebègue, S. (1996). Oxygen spécifs scavenging.

12. Boligon, A. A., Machado, M. M., & ; Margareth, L. A. (2014). Medicinal chemistry Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Médicinal Chemistry*

13. Béal, c ; Helinck, S. (2003). Fabrication des yaourts et des laits fermentés. F6315. Agro Paris Tech INRA université paris –sachay, CBAI, 78850 Hivernal-Grignon, France.

Q

14. Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & ; Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3). <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>

E

15. Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A., & ; Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. In *Food Engineering Reviews* (Vol. 3, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9036-6>

F

16. Feás, X., Vázquez-Tato, M. P., Este vinho, L., Seijas, J. A., & Iglesias, A, (2012). Organic Bee Pollen active Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. *Molecules*. 17 (7). 8359-8377

17. FANALI et al., « Nano-Liquid Chromatography in Nutraceutical Analysis: Determination of Polyphenols in Bee Pollen », *Journal of Chromatography. A* 1313 (25 octobre 2013): 270-74, doi: 10.1016/j.chroma.2013.06.055

18. FEAS et al., « Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality », *Molecules* 17, no 7 (11 juillet 2012): 8359-77, doi:10.3390/molecules17078359..

G

19. Gelebart, P. (2019), Modulation de la texture de gels acides laitiers par addition d'agrégats de protéines laitières. Université de Nantes ; INRA UR1268 Biopolymères interactions Assemblages

20. Goulet O., (2017). Yaourt, un nouveau regard. Cahiers de nutrition et de diététique. 52S, S3-

H

21. HUMAN et NICOLSON, « Nutritional Content of Fresh, Bee-Collected and Stored Pollen of *Aloe Greatheadii* Var. *Davyana* (Asphodelaceae) », *Phytochemistry* 67, no 14 (juillet 2006): 1486-92, doi: 10.1016/j.phytochem.2006.05.023

22. Hadri N ; (2015). Etude phytochimique et activité antioxydant d'extrait de plantes *Sedum villusum* L. (Orpin) et *Ana basis articulata* Moq. (Forsk). Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire et biochimie. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pp. 106

23. Hubert, J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja – Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Institut National Polytechnique De Toulouse

24. Habibou, H. H., Idrissa, M., Khalid, I., Benjamin, O., & Rabani, A. (2019). Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal ESJ*, 15(12). <https://doi.org/10.19044/esj.2019.v15n12p159>

25. Hayat, K., Hussain, S., Abbas, S., Farooq, U., Ding, B., Xia, S., Jia, C., Zhang, X., & Xia, W. (2009). Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Separation and Purification Technology*,

I

26. INSERM, « Institut national de la santé et de la recherche médicale », consulté le 3 juillet 2016, <http://www.inserm.fr/>.

J

27. Jimoh K.O. et Kolapo A.L., (2007). Effect of different stabilizers on acceptability and shelf of soy-yogurt. African Journal of Biotechnology, Vol.6 (8), pp 1000-1003

K

28. -Kumar S. et Pandey A. K., (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids an Overview. The Scientific World Journal, Article ID 162750, 16

29. Kieliszek M ; Piwowarek K ; Kot A.M ; Błażej S., Chlebowska-Śmigiel A. et Wolska I., (2017). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review, Trends in Food Science & Technology, doi: 10.1016/j.tifs.2017.10.021

m

30. Margarita L., Chávez-Quiroz K., Medina-Juárez L. et Gámez Meza N., (2012). Phenolic Characterization, Melanoidins and Activity of Some Commercial Coffees from Coffea Arabica and Coffea canephora. J. Mex. Chem. Soc., 56(4), 430-435, Sociedad Química de México ISSN 1870-249X

31. Morgano MA, Milani RF, Martins MCT et Rodriguez-Amaya DB, (2011). Determination of water content in Brazilian honey-bee collected pollen by Karl Fischer titration. Food Control, p.1-

32. Marion Thibault. Le pollen apicole : ses propriétés et ses utilisations thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. 2017. ffhal-019

33. Massaux C., (2016). Pollens: une composition nutritionnelle d'intérêt !. Abeilles & cie n°174. 29-3

34. Marie-France HÜGEL, 1962 Institut de Chimie des Substances naturelles, Service du Professeur E. LDE xEx, Gif-sur-Yvette (Seine-et-Oise). ÉTUDE DE QUELQUES CONSTITUANTS DU POLLEN

35. MEYER S., REEB C. et BOSDEVEIX R., 2004. Biologie et physiologie végétales. Botanique. Edit, Maloine S. A, Paris, 461 p

36. Melo et Almeida-Muradian, « Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples

37. Mihoubi, Dj (2019).Formulation et caractérisations d'un yaourt supplémenté de la poudre de graines de lin .Département de Technologie Alimentaire et de nutrition Humaine

38. Mission scientifique de sydifrais. (1997).Yaourt, laits fermentés. 34, rue de saint-Petersburg, 75382 paris codex 08, France

39. Mahaut M., Jeantet R., Brulé G., Schuck P, 2000. Les produits industriels laitiers. Tec et Doc, Lavoisier, Paris. France.

40. Maksimenkov,R. and B.Krupitzyn, 2016.Indicators of quality changes during storage of yoghurt with the addition of pollen and microbiological assessment .Articles of 67th Scientific Student Conference , Part V, Voronezh State Agrarian University named of Emperor Peter I, pp.30-36(Ru).

41. Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3). [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(96\)00034X](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(96)00034X)

42. Michel, T. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophae rhamnoides). In *Food and Nutrition*

43. Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH- assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>

44. M. G. R., Bogdanov S., de Almeida-Muradian L. B., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C. et Ferreira F., (2008). Pollen composition and standardization of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World*.47 (2): 156-163

ℓ

45. Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4). <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x>

46. Lomova,N.and O.Snehko,2014.Effect on honey,royal jelly and pollen on biotechnological processes .*East-European Advanced Technology Magazine*,2(68):62-65(Ru).

p

47. Paci Kora E. (2004). Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur. Thèse de doctorat de l'Institut national agronomique Paris-Grignon

48. Porteau C. 2013. La vie de la ruche.

R

49. Renault-Miskovsky J. et Petzold M. 1992. Pollens et spores. Ed. Delachaux et Niestlé. Neuchâtel. 360 p

50. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10). [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

S

51. Sauvager F., (2012). Les produits de la ruche et la santé humaine. Montpellier

52. Su, X., Duan, J., Jiang, Y., Shi, J., & Kakuda, Y. (2006). Effects of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(4). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.02.005>.

53. Serra Bonveh J; Gomez Pajuelo A. and Connell Galindo F, (1986). Physicochemical properties and composition of honeybee-collected pollen produced in Spain. *Alimentaria*. 176. 63-67

54. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).

55. Solange, T.C., Rosicler, B., Severing, M.A., Maria, L.M., 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity.

56. SAvadogo ,A ;Traore, A.(2011). La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés .*Int .J. Biol .chem, Sci.*5(5) :2057-2075.<http://indexmedicus.afri.wh.int.Ouagadougou.Burkina Faso .p2062-2065>

T

57. Tamine, A ; Deeth ,H.c (1980).Yogurt :technology and biochemistry .journal of Food protection ,43,12,938-976.

58. Terre S. 1986. Propriétés technologiques, nutritionnelles et physiologiques Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus. Techniques laitières et marketing. 1008, 26-36.

W

59. Weerathilake, W. A. D. V., Rasika, D. M. D., Ruwanmali, J. K. U., & Munasinghe, M. A. D. D. (2014). The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. International Journal of Scientific and Research Publications. 4(4), 1-10.

Z

60. Zuluoga MC; Serrata.CJetQuicazan.CM, (2015). Bee-Pollen Structure Modification by physical and Biotechnological processing: Influence on the Availability of Nutrients and Bioactive Compounds. Chemical Engineerig Transactions. 43 79-83.

61. Zadernowski, R; Czaplicki, S; Naczka, M.(2009)phenolic profiles of mangosteen fruits (Garcinia mangostana).10.1016/j.FOOD em.2008.06.030.

Annexe

L'appareillage

L'appareillage utilisé durant les expériences est représenté dans le tableau ci-dessous :

| Appareils | Références |
|-------------------------------------|--|
| Broyeur électrique | Moulinex, AR110510, France |
| Balance électronique | OHAUS, px85, B937268868, USA |
| Ultrasons | JP SELECTA S A, 611898, Spain |
| Etuve | MEMMERT, B319.0656, Germany |
| Centrifugeuse | Sigma 3-16L, 172577, Germany |
| Réfrigérateur | Maxi power |
| Agitateur magnétique | Stuart, SB162, R600002574, PRC |
| Spectrophotomètre UV-visible | Optima, SP-3000nano, 5T5701-143132-00, Japon |
| Vortex | Nahita, C84181, 50681500 |
| Bain marie | MEMMERT WNB22, L519.0937, Germany |
| Vortex | Nahita, C84181, 50681500 |
| pH mètre | Mettlertoledo, Five Easy F20, B615331415, Switzerland) |

Annexe 01 : L'appareillage utilisé afin de réaliser la partie expérimentale

Produits chimiques

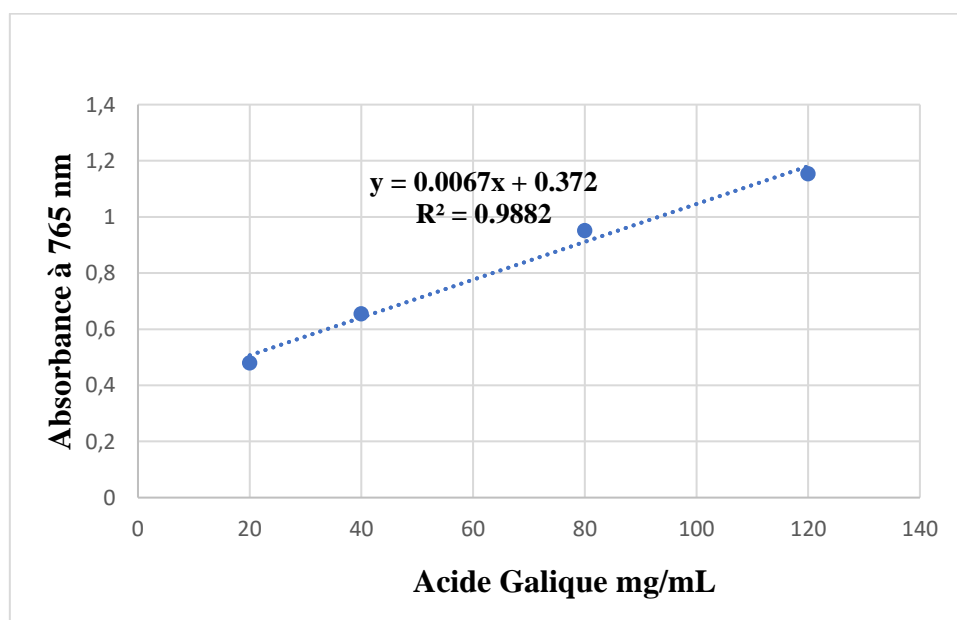
Différents réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans les expériences. Le tableau ci-dessous représente ses derniers :

| réactifs chimiques et solvants | Formule chimique |
|--------------------------------|---|
| Ethanol | C ₂ H ₅ OH |
| Folin ciocalteu | (H ₃ PW ₁₂ O ₄₀) et (H ₃ PMoO ₄₀). |

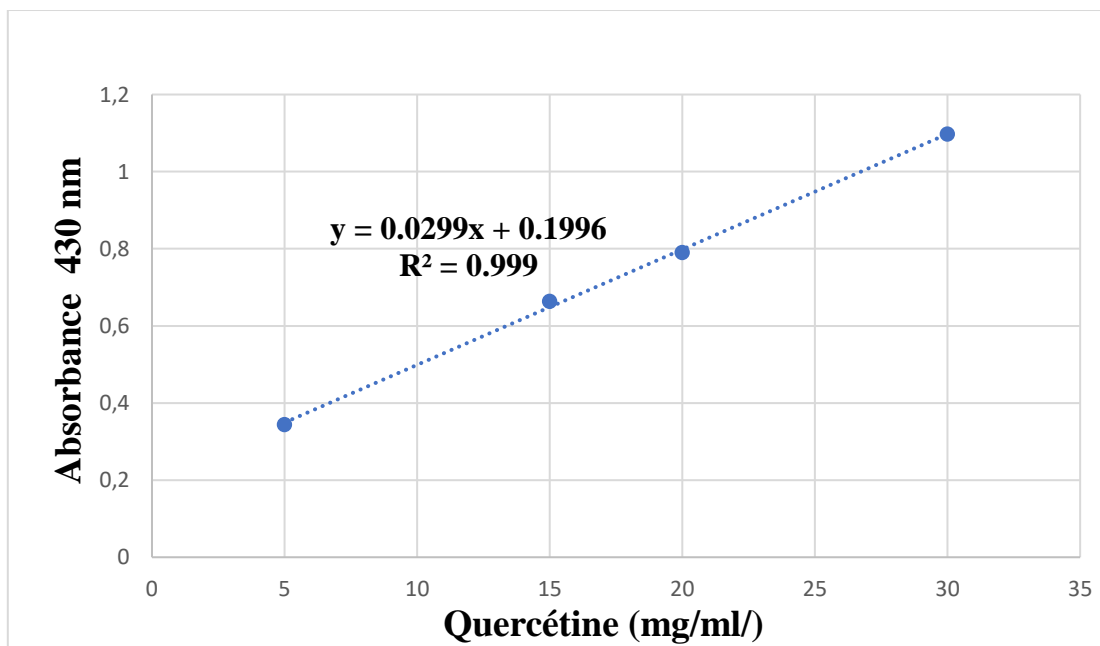
| | |
|--|--|
| Carbonate de sodium | Na ₂ CO ₃ |
| DPPH | C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆ |
| ABTS | C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₆ S ₄ |
| Ferricyanure de potassium | C ₆ N ₆ FeK ₃ |
| Chlorure de fer | FeCl ₃ |
| Phosphate de sodium monobasique monohydraté | NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O |
| Phosphate de sodium dibasique dodecahydraté | Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O |

Annexe 02 : les réactifs chimiques et solvants utilisés durant les expériences et leurs formules chimiques

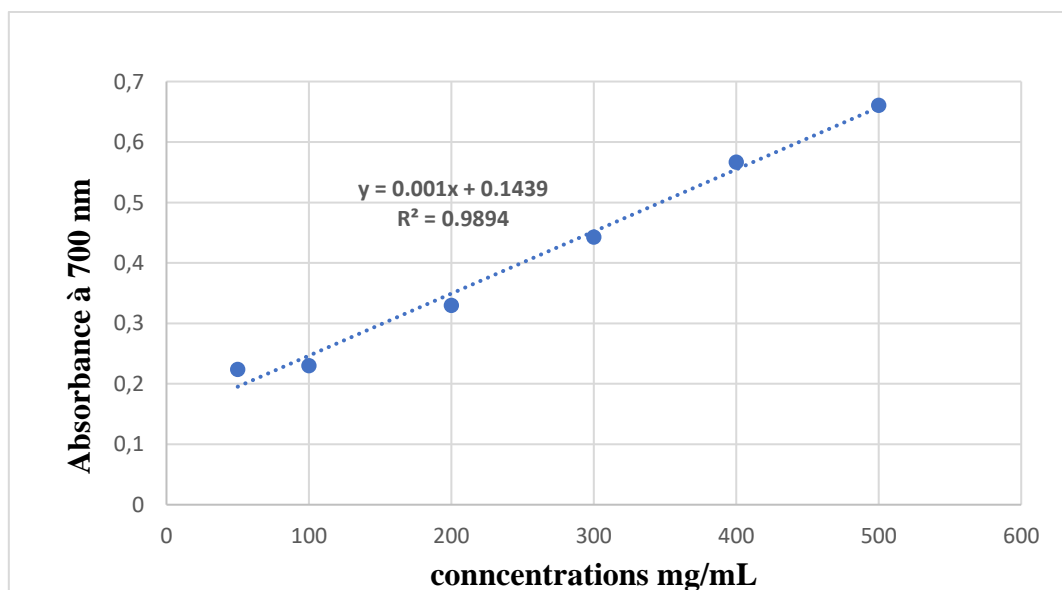
Les courbes d'étalonnage



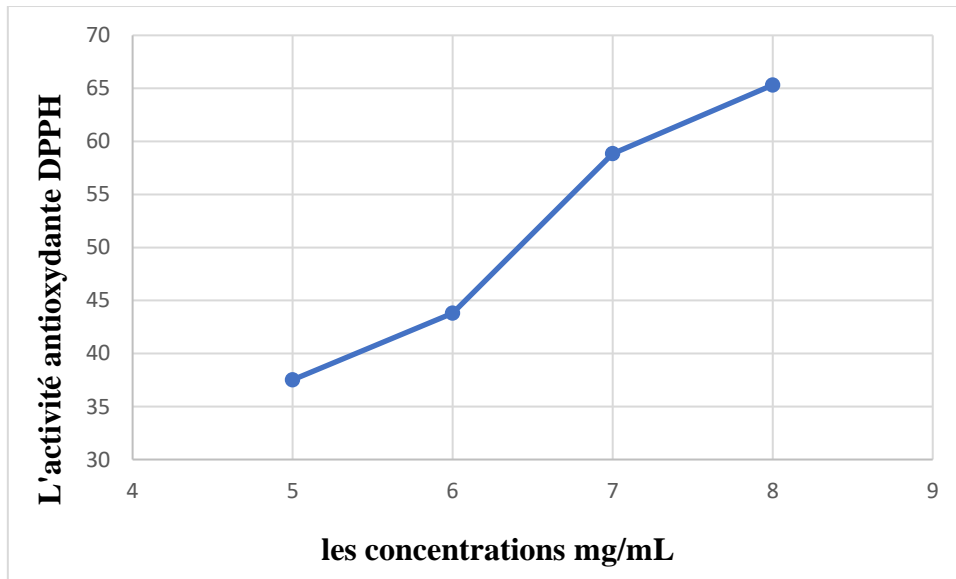
Annexe 03 : Courbe d'étalonnage de dosage des composés phénoliques totaux.



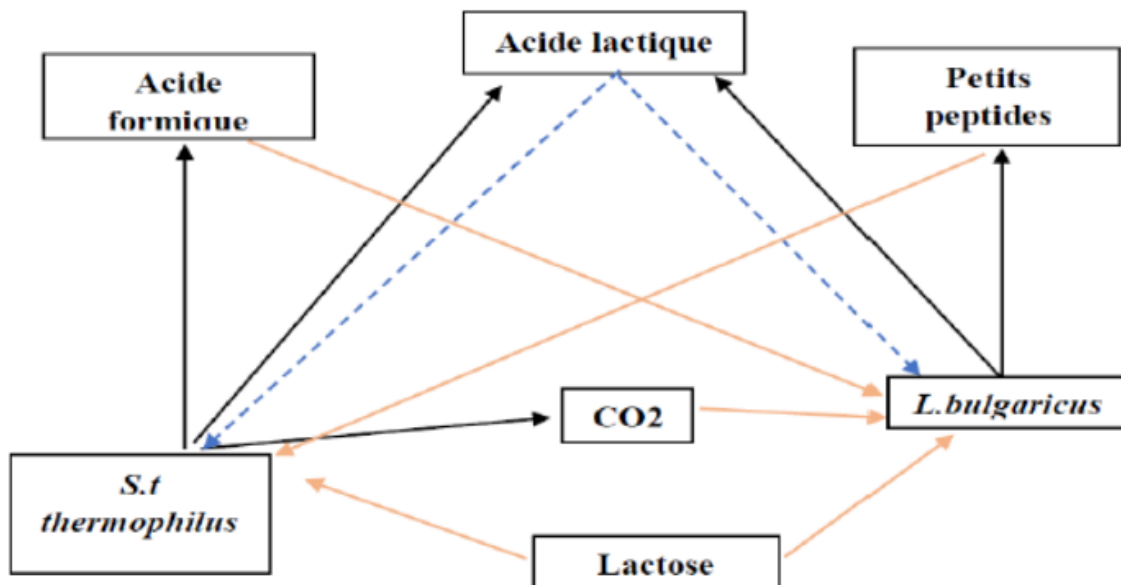
Annexe 04 : Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes



Annexe 05 : courbe de pouvoir réducteur FRAP



Annexe 06 : courbe de l'activité antioxydante DPPH



Annexe 07 : proto coopération entre *st. thermophilus* et *lb. Bulgaricus*