

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université A. MIRA-BEJAIA**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie  
Spécialité : Biotechnologie microbienne



Réf : .....

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

**MASTER**

**Thème**

**Innovation dans la conception d'un  
emballage actif antimicrobien pour  
les produits carnés**

Présenté par : M<sup>elle</sup> Achiou Iméne & M<sup>elle</sup> Kaid Cylia

Soutenu le **25/06/2023**

Devant le jury composé de :

<b>M<sup>r</sup> Nabti El-hafid.</b>	Professeur	Président
<b>M<sup>me</sup> Mairi Assia.</b>	MCB	Examinatrice
<b>M<sup>me</sup> Djaoud Kahina.</b>	MCB	Promotrice
<b>M<sup>r</sup> Bettache Azzeddine.</b>	Professeur	Co-promoteur

Année universitaire : **2022/2023**

# *Remerciements*

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Mme DJAOUD et Mr BETTACHE pour tous leurs conseils et leur patience avec nous.

Nous tenons à remercier les membres de jury, à savoir, Mme MAIRI et Mr NABTI, d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous désirons aussi remercier tous les professeurs de l'université de BEJAIA, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études.

Nous remercions les ingénieurs des laboratoires qui nous ont fourni les produits ainsi que le matériel nécessaire pour la réalisation de notre travail.

Notre sincère gratitude va vers tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Dédicaces

Je dédie ce travail particulièrement a mes chers parents *Abdenour* et *Zina* qui ont consacré toute leur vie pour le bien de la nôtre, pour leur amour, soutien et confiance, pour tout ce qu'ils ont fait pour moi et pour que je puisse aujourd'hui en arriver là.

A mon seul frère, mon pilier dans la vie *Massila* pour son aide et son soutien.

A ma sœur jumelle, ma moitié *Célinia* qui m'a toujours soutenue et aidé, on a tout partagé ensemble le meilleur comme le pire.

A mon très cher fiancé *Amir*, pour son affection, pour son encouragement et son soutien, tu étais toujours là pour moi. Je suis très heureuse et très chanceuse de t'avoir dans ma vie.

A mes best friends *Nawel*, *Radia* et *Nina*, pour votre amitié et votre honnêteté, l'amitié dans nos jours n'existe plus j'ai de la chance de vous avoir dans ma vie.

A ma chère binôme *Cylia* tu n'es pas seulement mon binôme tu es aussi ma copine, heureusement qu'on s'est choisi pour ce travail.

A ma copine de chambre *Nidoussa* ravie d'avoir fait ta connaissance.

Je vous souhaite a tous tout le bonheur du monde que dieu vous garde près de moi.

Je vous aime énormément.

*Imène Achiou*

# *Dédicace*

*Avant tout, je remercie le Dieu tout puissant, qui m'a donné la volonté, le courage et la patience et qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.*

*A mes très chers parents, en témoignage de ma profonde affection et ma reconnaissance pour leur amour, soutien et confiance. Je prie Dieu le Tout Puissant pour qu'il leur accorde une longue vie pleine de bonheur.*

*A mes très chères sœurs : Fatma, Sara, Kahina*

*A mes frère : Abd-rezak ; Fatah; Abd-elhak, Fares*

*Mes chaleureux dédicaces à vous mes amis : Rahima, Lydia, thiziri, Amani Thamiła, yasmine.*

*A ma très chère amie Thiziri Kari je te remercie pour ton soutien continu pour ton amitié chère à mon cœur, je suis chanceuse de t'avoir à mes côtés, et je te souhaite tout le bonheur.*

*A toi ma binôme Iméne et ta famille. Pour l'esprit de responsabilité et de coopération.*

*A tous les professeurs spécialement notre promotrice Kahina DJAOUD et le professeur BETTACHE Azzeddine et les étudiants de la promotion de « biotechnologie microbienne 2023 ».*

*A toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

***KAID Cylia***

**LISTE DES ABRÉVIATIONS**

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
<b>DMSO</b>	: Diméthyle Sulfoxyde
<b>DO</b>	: Densité Optique.
<b>pH</b>	: Potentiel d'Hydrogène
<b>nm</b>	: nanomètre
<b>UFC</b>	: Unité formant colonie.
<b>ABTS</b>	: 2, 2-Azinobis 3-éthyle-Benzo Thiazoline-6-Sulphonate
<b>DPPH</b>	: 2' 2-Di Phenyl-1-Picryl hydrazyl.
<b>CRE</b>	: capacité de rétention d'eau
<b>CRH</b>	: capacité de rétention d'huile

**LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1.</b> Utilisation mondiale des matériaux d'emballage	<b>9</b>
<b>Figure 2.</b> Le pollen d'abeille polyflorale	<b>10</b>
<b>Figure 3.</b> Surfaces de réponses tridimensionnelles (3D)	<b>24</b>

**LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1.</b> La composition moyenne du pollen frais	<b>2</b>
<b>Tableau 2.</b> Les rôles de l’emballage alimentaire	<b>6</b>
<b>Tableau 3.</b> Les souches cible	<b>15</b>
<b>Tableau 4.</b> Propriétés techno-fonctionnelles du pollen d’abeille	<b>17</b>
<b>Tableau 5.</b> Profil phytochimique et activité antioxydante de l’extrait phénolique du pollen d’abeille	<b>19</b>
<b>Tableau 6.</b> Plan d’expériences de Box-Behnken avec des valeurs expérimentales et prédites pour le pH et la teneur en eau de la viande	<b>22</b>
<b>Tableau 7.</b> Analyse de la variance (ANOVA) pour le modèle polynomial quadratique	<b>25</b>
<b>Tableau 8.</b> Activité antibactérienne de l’extrait de pollen d’abeille	<b>27</b>

## SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures et tableaux

**Introduction ..... 1**

### PREMIÈRE PARTIE : PARTIE THEORIQUE

**Chapitre 1 : Le pollen apicole ..... 2**

**Origine et types de pollen ..... 2**

    Origine..... 2

    Types de pollen ..... 2

**Composition nutritionnelle ..... 2**

    Teneur en eau ..... 3

    Les glucides..... 3

    Les protéines ..... 3

    Acides aminées..... 3

    Les lipides ..... 3

    Les vitamines..... 3

    Les composés phénoliques ..... 4

**Mode de transformation ..... 4**

    Collecte du pollen d'abeille..... 4

La collecte du pollen par les abeilles ..... 4

Par l'apiculteur..... 4

    Nettoyage et tri ..... 4

    Mode de conditionnement ..... 4

Le séchage..... 4

La congélation et stockage..... 5

    L'étiquetage et commercialisation ..... 5

**Propriétés biologiques ..... 5**

    Activités antioxydantes ..... 5

    Activités antimicrobiennes ..... 5

    Autres activités ..... 5

<b>Chapitre 2 : L’emballage alimentaire .....</b>	<b>6</b>
<b>Terminologie, niveaux et fonctions.....</b>	<b>6</b>
Terminologie .....	6
Niveaux .....	6
Fonctions .....	6
<b>Packaging, l’inévitable défis des IAA.....</b>	<b>7</b>
<b>Les déchets d’emballage : un problème environnementale mondiale.....</b>	<b>7</b>
<b>Tendance actuelles en matière bio-emballages alimentaire .....</b>	<b>7</b>
Emballage conventionnel .....	7
Emballage biodégradable .....	8
Emballage comestible.....	8
Emballage intelligent.....	8
Emballage actif.....	8
<b>Matériaux d’emballage.....</b>	<b>9</b>
<b>Techniques de production .....</b>	<b>9</b>

## DEUXIÈME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

<b>Chapitre 3 : Matériels et méthodes.....</b>	<b>10</b>
<b>Matériel Biologique.....</b>	<b>10</b>
<b>Propriétés Techno-Fonctionnelles de Pollen d'abeille.....</b>	<b>10</b>
Capacité de gonflement .....	10
Capacité de rétention d'eau(CRE) .....	11
Capacité de rétention d'huile(CRH) .....	11
<b>Propriétés Phytochimiques du pollen d'abeille.....</b>	<b>11</b>
Teneur en composés phénoliques.....	11
Teneur en flavonoides .....	12
Teneur en flavonols .....	12
Teneur en proanthocyanidines .....	12
Teneur en caroténoides.....	12
<b>Activité antioxydante du pollen d'abeille.....</b>	<b>12</b>
Activité antiradicalaire DPPH.....	13
Activité antiradicalaire ABTS .....	13
Pouvoir réducteur .....	13
Test de phosphomolybdate.....	14

Pouvoir scavenger du radical hydroxyle .....	14
<b>Optimisation de la préparation de l'emballage actif biodegradable .....</b>	<b>14</b>
<b>Evaluation de l'activité antimicrobienne .....</b>	<b>15</b>
Souches microbiennes et conditions de croissance .....	15
Standarisation des souches et préparation de l'inoculum bactérien.....	16
Evaluation de l'activité antimicrobienne du pollen d'abeille .....	16
<b>Chapitre 4 : Résultats et discussion .....</b>	<b>.....</b>
4.1 Propriétés techno-fonctionnelles .....	17
4.2. Analyses des composés phytochimiques.....	18
Activités antioxydante in vitro .....	20
Plan de surface de reponse .....	21
Activité antibacterienne in vitro .....	27
<b>Conclusion.....</b>	<b>28</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

## INTRODUCTION

Les préoccupations écologiques émergent en raison de l'utilisation massive de plastiques non biodégradables dérivés du pétrole, qui ont entraîné une grave pollution de l'environnement de plus en plus urgente, ce qui a stimulé le développement de matériaux alternatifs biodégradables et renouvelables (Anushikha et al., 2023). Parmi de nombreuses approches dans ce domaine, il en est une proposant l'utilisation de matériaux à base de polysaccharides. Ces polymères sont biodégradables, non toxiques et obtenus à partir de ressources renouvelables (Aleksanyan, 2023). Évidemment, les « concurrents » biodégradables sont plus chers et leur production nécessite des procédés technologiques avancés, mais les bénéfiques pour la nature et le futur monde durable sont plus importants. Les composants conférant la biodégradabilité doivent d'abord provenir de ressources naturelles renouvelables, accessibles et peu coûteuses (Zhang et al., 2023 ; Wang et al., 2022).

La durée de conservation des aliments peut être augmentée en utilisant des films biodégradables avec des qualités antimicrobiennes, antioxydantes, barrière à l'humidité et réactives au pH comme matériaux d'emballage (Bangar et al., 2023). La production de systèmes « emballages biodégradables intelligents » avec des molécules dérivées naturellement des aliments et des déchets alimentaires, avec des polysaccharides comme matrices, peut offrir des perspectives d'avenir pour le développement de matériaux d'emballage biodégradables (Bhargava et al., 2020 ; Azman et al., 2022). La viande est considérée comme un milieu exceptionnel qui offre d'excellentes conditions pour la croissance et l'existence des micro-organismes, ainsi l'emballage antimicrobien actif tend à prolonger la durée de conservation du produit et à établir la sécurité et la sûreté de la viande fraîche et des produits carnés. Dans un emballage actif, les composants antimicrobiens peuvent être enduits, incorporés, immobilisés ou modifiés en surface sur un matériau d'emballage (Daniloski et al., 2020).

De nombreuses recherches développent de nouvelles formulations utilisant la réticulation de polymères, se mélangeant avec des composés inorganiques (métaux, oxydes métalliques, argiles) et organiques (colorants, huiles essentielles, extraits). L'enjeu principal de ce travail est porté sur l'optimisation du développement d'un film d'emballage biodégradable actif antimicrobien et antioxydant composé de cellulose, avec l'extrait phénolique de pollen, pour améliorer la durée de conservation et les qualités de la viande. Outre son utilisation pharmaceutique potentielle, le pollen pourrait être un agent protecteur efficace à utiliser comme additif antioxydant et antibactérien naturel dans les systèmes alimentaires.

## CHAPITRE 1 : LE POLLEN APICOLE

### Origine

Le pollen d'abeille est un mélange de pollen de fleurs avec des sécrétions et du nectar d'abeilles, en ajoutant des substances salivaires (Mauriello et al., 2017). Le pollen est l'élément fécondant des fleurs. Il est contenu dans les étamines des fleurs et composé de très petits granules qui, selon la fleur d'origine, peuvent montrer différentes couleurs : jaune, vert, rose, blanc, rouge et marron. Le pollen d'abeille est la source principale d'alimentation pour la croissance des abeilles, il est transporté par plusieurs moyens, à savoir, le vent, l'eau et les insectes (Thakur et al., 2020).

### Les types de pollen

Selon Frédérique et al. (2018), il existe deux principaux types de pollen : les pollens anémophiles (du grec *anemos* = *vent*) qui sont dispersés par le vent, et les pollens entomophiles (du grec *entomon* = *insecte*) qui sont transportés de fleur en fleur par des insectes comme les abeilles. Bien souvent il faut une étude fine en microscopie pour aboutir à la détermination des grains de pollen, mais une classification approximative peut être utilisée. Elle est basée sur : la taille : les plus petits sont ceux du myosotis (7  $\mu\text{m}$ ) et les plus gros sont ceux de la courge (150  $\mu\text{m}$ ) ; la forme ; la présence de pores ou de sillon en surface et l'ornementation de l'exine.

### Composition nutritionnelle

Le pollen d'abeille contient un large éventail d'éléments nutritifs, notamment, des glucides, des protéines, des lipides et des fibres alimentaires, ainsi que des micronutriments bioactifs, notamment, des vitamines, des minéraux, des composés phénoliques et volatils. En raison de cette composition de haute qualité, ce produit a gagné en importance en tant qu'aliment fonctionnel. Des études ont été menées pour montrer et établir son potentiel thérapeutique pour des applications médicales et alimentaires (El Ghouizi et al., 2023).

**Tableau 1.** La composition moyenne du pollen frais (Alexandra, 2022).

Élément	Teneur (%)
Protéine	25–30
Glucides	30–50
Eau	18
Cellulose	18
Minéraux	5
Lipides	1–10

### **Teneur en eau**

La teneur en eau du pollen est d'environ 18% (Alexandra et al., 2022). Cependant, cette teneur est considérée comme un environnement favorable à la croissance bactérienne et fongique (Mekki et al., 2019).

### **Les glucides**

Les sucres et les alcools de sucre constituent la majeure partie des glucides du pollen (Hernundez et al., 2018). Le fructose, le glucose et le saccharose sont les principaux sucres signalés dans les produits apicoles avec d'autres sucres mineurs, notamment, l'arabinose, l'isomaltose, le mélibiose, le mélézitose, le ribose, le tréhalose et le turanose (Thakur et al., 2020).

### **Les protéines**

La teneur en protéines du pollen peut varier entre quelques pourcents et près des deux tiers du poids sec de la graine, suivant la provenance végétale. On les trouve dans le manteau pollinique et le cytoplasme de la cellule végétative (Human et al., 2020).

### **Les acides aminés**

La teneur totale en acides aminés du pollen d'abeille a été quantifiée par de nombreux chercheurs et se situe généralement entre 108,1 et 287,7 mg/g MS. Concernant le profil en acides aminés, il est composé d'acides aminés essentiels et non essentiels, tandis que le principal acide aminé du pollen d'abeille est l'acide glutamique (Alvarez et al., 2017).

### **Les lipides**

Le pollen d'abeille est considéré comme un nutriment essentiel, étant riches en acides gras, en particulier en acides gras insaturés tels que l'acide oléique (3,9–21,2%), l'acide linoléique (6,3–49,7%) et l'acide linoléique (0,2–40,7%), avec une myriade d'avantages pour la santé, bien qu'avec des différences basées sur les origines (Mostafa H et al., 2023).

### **Les vitamines**

Les vitamines présentes dans le pollen sont les vitamines B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9), C, D et E (Denisow et al., 2016). La vitamine A est absente mais un de ses précurseurs est présente dans la composition, à savoir la provitamine A ou  $\beta$ -carotène, qui permet un apport en vitamine A au consommateur par transformation dans l'intestin. La rutine est présente dans la composition du pollen, et possède une activité vitaminique sur les capillaires sanguins, même si elle n'est pas à proprement parler une vitamine (Brachemi et al., 2018).

## Les composés phénoliques

- ◆ Le pollen d'abeille est riche en polyphénols, notamment des acides phénoliques et les flavonoïdes, qui lui confèrent une activité biologique diversifiée (Mostafa et al., 2023).
- ◆ Les acides phénoliques les plus courants dans le pollen d'abeille sont les acides p-coumarique, chlorogénique et férulique (Kocot et al., 2018).
- ◆ La teneur de ces composés dépend de plusieurs facteurs environnementaux : l'origine des plantes, type de sol, le temps et la méthode de la collecte et les conditions climatiques.
- ◆ Les flavonoïdes sont connus par leur effet anti-inflammatoire et l'inhibition de la production des cytokines pro-inflammatoire (Younsi et al., 2016).

### Mode de transformation

#### Collecte du pollen d'abeille

- ◆ **La collecte du pollen par les abeilles :** La collecte du pollen est effectuée principalement à la fin de l'hiver et au printemps par les jeunes abeilles butineuses (Thibault, 2017).
- ◆ **La collecte du pollen par l'apiculteur :** La récolte se fait à l'aide de trappes à pollen. Ces dernières sont placées à l'entrée de la ruche. La trappe est menée de peigne percé de trous à travers lequel les abeilles sont obligées de passer pour ramener le pollen dans la ruche, les pelotes de pollen dans les corbeilles de leurs pattes restent donc prisonnières et tombent dans un panier ou un bac situé sous la trappe (Thibault al., 2017).

#### Nettoyage et tri

La première étape consiste en un tri grossier à l'aide d'un tamis, puis d'une trieuse à pollen. La dernière étape est un tri manuel à la pince à épiler dans un bac à fond clair pour éliminer ce qui est passé à travers les mailles du tamis (Thibault et al., 2017).

#### Mode de conditionnement

Le pollen prélevé dans les trappes ne peut pas se conserver en l'état très longtemps. Il existe deux méthodes pour assurer sa conservation : la congélation et la déshydratation partielle (séchage) (Kaci et al., 2020).

- ◆ **Le séchage :** Le pollen a une composition qui permet à un grand nombre de micro-organismes de se développer. Pour que le pollen garde ses propriétés, il est préférable d'utiliser un air sec, une température inférieure à 45°C pour atteindre une humidité en dessous de 6% (Mosbah et al., 2020).

- ◆ **La congélation et stockage :** Pour que le pollen puisse garder ses valeurs nutritives jusqu'à un an, il doit être réfrigéré à 5°C au moins un an ou congelé à -15°C pendant plusieurs années. Ensuite stocker à l'abri de la lumière dans des récipients hermétiques ou en verre sombre (FAO, 2018).

## L'étiquetage et la commercialisation

### Propriétés biologiques

#### Activité antioxydante

Le stress oxydatif est impliqué dans le développement de plusieurs pathologies telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, le cancer, l'athérosclérose et d'autres troubles (Denisow et al., 2016). L'utilisation de produits naturels tels que les produits de la ruche, notamment le miel, le pollen, la gelée royale et la propolis, comme source de molécules antioxydantes, a été soutenue et suggérée pour protéger les cellules humaines des effets du stress oxydatif par de nombreuses études scientifiques (El-Guendouz et al., 2020). L'activité antioxydante du pollen est la résultante de la synergie entre les acides phénoliques, les flavonoïdes dont la rutine, le sélénium et les vitamines E et C (Coudert et al., 2022).

#### Activités antimicrobiennes

Il a été prouvé que les extraits frais de pollen d'abeille sont efficaces sur les bactéries Gram positives et Gram négatives telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ainsi que sur les champignons microscopiques et les levures comme *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *Trichosporon spp.* (Cornara et al. 2017).

#### Autres Activités

Le pollen d'abeille a un large spectre d'effets pharmacologiques et constitue un domaine prometteur pour les chercheurs intéressés par les effets thérapeutiques des produits naturels, en particulier les produits de la ruche. La riche composition en probiotiques, protéines, macro et micronutriments du pollen d'abeille a été liée à son effet positif sur le développement morphologique (épaisseur de l'épithélium) et le fonctionnement (absorption) de l'intestin grêle, conduisant au bon fonctionnement du tractus gastro-intestinal. Le pollen d'abeille exerce d'autres activités biologiques à savoir, l'activité antivirale, anti-inflammatoire, immunostimulante, antiallergique, hypoglycémiant (Ousaid et al., 2023).

## CHAPITRE 2 : LES EMBALLAGES ALIMENTAIRES

### Terminologie, niveaux et fonctions

#### Terminologie

Le terme emballage vient du mot emballer. Il est souvent formé de multiples composantes de formes, de fonctions et de matériaux différents afin de répondre à des besoins complémentaires pour un produit déterminé. Plus particulièrement, l'emballage alimentaire, destiné aux produits sensibles et périssables, ne doit pas présenter un risque pour la santé humaine et doit être compatible avec la nature du produit, sa forme physique, sa protection et sa dégradation causée par différentes causes biologiques ou chimiques (Anonyme 1).

#### Niveaux

- ◆ **Emballage primaire** (une boîte métallique, une bouteille en verre, un sachet ou une pochette en plastique) : c'est le plus important car il est en contact direct avec le produit. Il constitue la principale barrière de protection.
- ◆ **Emballage secondaire** : regroupe divers emballages primaires selon son type et sa taille. Par exemple, une pochette en plastique peut contenir des bonbons ou des biscuits emballés en dose unique.
- ◆ **Emballage tertiaire** : également appelé emballage de transport, est composé d'un certain nombre d'emballages secondaires qui facilitent le commerce national et international (palette, sangles, ... etc.).
- ◆ **Emballage quaternaire** : facilite la manutention des emballages tertiaires (Frédéric et al. 2022).

#### Fonctions

Le tableau suivant récapitule le rôle de l'emballage alimentaire

**Tableau 2.** Les rôles de l'emballage alimentaire (Anonyme 1).

Rôle technique	Rôle marketing	Intervenants
Contenir	Vendre	Fabricants
Préserver	Communiquer	Transformateurs
Transporter	Motiver	Détaillants/Grossistes
Utiliser	Informé	Consommateurs

### **Packaging, l'inévitable défis des industries agro-alimentaires**

Devant un pareil défi environnemental, ce n'est pas seulement l'agriculture qui doit s'adapter mais aussi toutes les autres industries. Parmi les plus importantes, vu la masse populaire qu'elle touche, est l'industrie agroalimentaire. En plus de donner un produit au goût du consommateur, elle doit réduire ses déchets et choisir l'emballage le plus écologique possible. Ce n'est pas une mince affaire surtout lorsque l'on sait que le marché mondial de l'emballage est en croissance annuelle de 3,5% par an jusqu'en 2020, avec des ventes qui atteindront les 997 milliards de dollars en 2020. Elle doit faire preuve d'une extrême ingéniosité et d'une très grande créativité pour allier tous les bénéfices (Cherif et al., 2016).

### **Les déchets d'emballage : un problème environnemental mondial**

Les emballages utilisés sont les principaux déchets dans le monde créant des problèmes sanitaires et environnementaux. La gestion des déchets représente un énorme défi au niveau mondial que nationale. Elle fait face à de multiples obstacles tels que : l'insuffisance de moyens financiers et économiques, la défaillance des services de contrôle, ... etc (Imane et al, 2020).

### **Tendances actuelles en matière de bio-emballages alimentaire**

L'industrie agroalimentaire a développé de nouvelles technologies pour la détection et l'identification des agents pathogènes dangereux et des réglementations concernant la culture, le transport et l'emballage des aliments. Des emballages biodégradables actifs sont en cours de développement à partir de biopolymères biodégradables qui peuvent résoudre les problèmes environnementaux causés par les matériaux à base de pétrole (plastiques), ainsi qu'améliorer la durée de conservation, la qualité, le profil nutritionnel et la sécurité des aliments emballés. (Science de l'alimentation, 2022).

### **Emballage conventionnel**

Les emballages traditionnels continuent d'être largement utilisés dans de nombreux produits et industries, en particulier dans l'industrie alimentaire. L'emballage a un impact significatif sur les consommateurs, en particulier lors de l'achat de denrées alimentaires. Lors de la conception de l'emballage, la couleur, la forme, le matériau et la taille sont prioritaires par rapport aux autres caractéristiques du produit, influençant la façon dont les consommateurs perçoivent un produit (Luk et al., 2022).

### **Emballage biodégradable**

Un emballage biodégradable est tout type d'emballage qui peut être décomposé par des processus naturels. L'utilisation d'emballages biodégradables présente de nombreux avantages. D'abord, c'est une barrière contre les gaz, l'humidité, la poussière ou la lumière, mais l'emballage conventionnel n'est pas totalement efficace pour empêcher la détérioration des produits alimentaires par des réactions chimiques ou biologiques. Ensuite, il est écologique car il n'utilise pas de ressources non renouvelables, contrairement aux plastiques conventionnels à base de pétrole. Enfin, les emballages biodégradables sont également bénéfiques pour l'environnement car ils réduisent la quantité de déchets dans les décharges, les océans, les rivières et d'autres (Mangaraj et al., 2019).

### **Emballages comestibles**

Des films comestibles pourraient convenir comme alternatives d'emballage en raison de leurs capacités à empêcher le transfert d'humidité, d'oxygène et d'arômes (Mostafavi and Zaeim, 2020). De nos jours, les films comestibles sont devenus de plus en plus populaires et sont considérés à la pointe de l'industrie alimentaire (Bizymis et al., 2021).

### **Emballage intelligent**

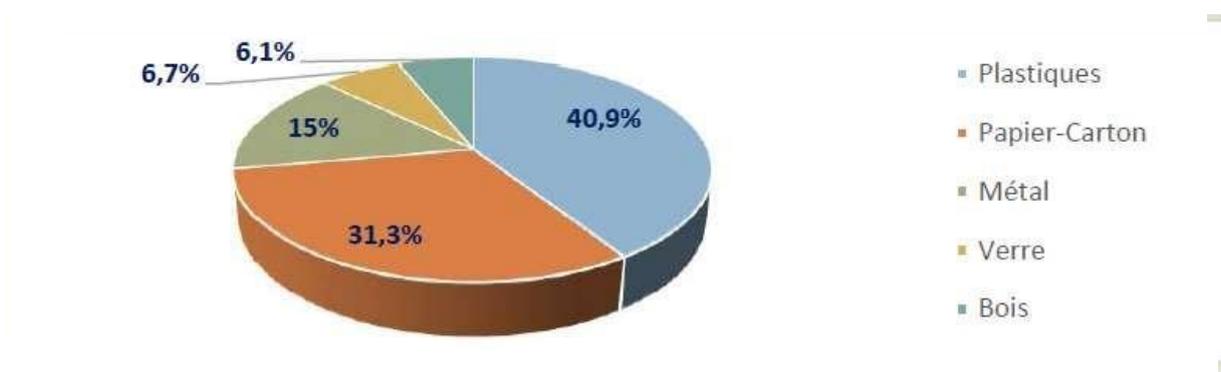
Le terme « emballage intelligent » décrit un type d'emballage qui utilise la technologie pour réagir de manière prédéterminée aux changements du système, tels que la qualité, la sécurité ou la maturité des aliments à l'intérieur (Alizadeh et al., 2019).

### **Emballage actif**

Les emballages actifs sont définis comme étant destinés à prolonger la durée de conservation ou à maintenir ou améliorer l'état de denrées alimentaires emballées. Ils sont conçus de façon à comprendre délibérément des constituants qui libèrent ou absorbent des substances dans les denrées alimentaires emballées ou dans l'environnement des denrées alimentaires (Nathalie et al., 2017). Dans la gamme des emballages actifs, nous pouvons distinguer deux catégories : les absorbeurs : ont pour objectif de retirer les éléments indésirables qui viendraient nuire à la qualité du produit contenu et les relargueurs d'additifs : permet d'ajouter, d'introduire des éléments bénéfiques à l'ensemble clos (Anonyme 1). Les emballages actifs peuvent contenir diverses molécules actives telles que des antimicrobiens, des antioxydants et même des colorants et des agents nutritionnels, qui peuvent être émises par l'emballage dans les aliments pendant le temps de stockage (Brahim et al., 2021).

### Matériaux d'emballage

Les emballages des produits alimentaires sont fabriqués à partir de quatre matériaux principaux, à savoir le plastique (37%), le carton (34%), le verre (11%) et les métaux (aluminium et acier) (6%), ainsi que 10% d'autres matériaux (bois, cires, lièges ...), respectivement, selon leur répartition en volume de production. Ces matériaux ont pour but d'assurer la protection et la conservation du produit, le stockage, la vente et le transport des denrées alimentaires, ainsi que la communication et le marketing liés à la marque et à la réglementation concernant l'étiquetage et la traçabilité (Pocas et al., 2018).



**Figure 1.** Utilisation mondiale des matériaux d'emballage.

### Techniques de production

Le procédé de fabrication varie selon le type d'emballage :

- ◆ L'injection : adaptée à la fabrication en grande série.
- ◆ Le thermoformage : adapté à la production de moyenne séries.
- ◆ L'extrusion : utilisée pour des très grandes séries comme pour des petites séries sur mesure.

## CHAPITRE 3. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de nutrition, du département des sciences alimentaires de faculté des sciences de la nature et de la vie et le laboratoire de recherche Biomathématiques, Biochimie, Biophysique et Scientométrie de l'Université de Bejaia.

### MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le pollen d'abeille, de source polyflorale, avait déjà été séchés, traités et emballés commercialement, et aucun autre traitement n'a été entrepris avant leur analyse. Pour obtenir un échantillon homogène, les grains de pollen bruts ont été broyés à l'aide d'un broyeur commercial et tamisés à travers un tamis de 250  $\mu\text{m}$ , puis reconditionnés à 4 °C.



**Figure 2.** Pollen d'abeille polyflorale.

### PROPRIÉTÉS TECHNO-FONCTIONNELLES DU POLLEN D'ABEILLE

Les propriétés techno-fonctionnelles du pollen d'abeille ont été déterminées selon la méthode décrite par Mateos-Aparicio et al. (2010).

#### Capacité de gonflement

Un échantillon de 250 mg a été pesé dans une éprouvette graduée de 10 mL (graduations de 0,1 mL) avec 5 mL d'eau distillée. Ensuite, il a été agité doucement pour éliminer les bulles d'air piégées et laissé sur une surface plane à température ambiante pendant une nuit pour permettre à l'échantillon de se déposer. Enfin, le volume (mL) occupé par l'échantillon a été mesuré et la capacité de gonflement a été exprimé en mL par g d'échantillon sec ( $m_1$ ). Le volume final après hydratation à 4 °C pendant 24 h a été enregistré comme V et elle a été calculé comme suit :

$$\text{Capacité de gonflement (mL/g)} = V/m_1 \quad (1)$$

### **Capacité de rétention d'eau (CRE)**

Quinze millilitres d'eau distillée ont été ajoutés à 250 mg d'échantillon dans un tube à centrifuger de 50 mL. L'échantillon a été agité et laissé à température ambiante pendant 1 h. Après centrifugation à 8000 tr/min pendant 10 min, le surnageant a été jeté, le résidu a été pesé et la CRE a été calculé en gramme d'eau par gramme d'échantillon sec. La masse de l'échantillon après 18 h d'hydratation a été enregistrée comme  $M_1$ , et la masse du résidu après séchage (80 °C) a été enregistrée comme  $M_2$ . La CRH a été calculé comme suit :

$$\text{CRE (g/g)} = (M_1 - M_2) / M_1 \quad (2)$$

### **Capacité de rétention d'huile (CRH)**

Le même protocole que ci-dessus a été suivi, mais en utilisant de l'huile d'olive vierge au lieu de l'eau. La CRH a été exprimé en gramme d'huile retenue par gramme d'échantillon sec. La masse de l'échantillon a été enregistrée en  $m_1$ , et la masse du résidu de surnageant d'huile rejeté après centrifugation (8000 tr/min pendant 10 min) a été enregistrée en  $m_2$ . La CRH a été calculé comme suit :

$$\text{CRH (g/g)} = (m_1 - m_2) / m_1 \quad (3)$$

## **PROPRIÉTÉS PHYTOCHIMIQUES DU POLLEN D'ABEILLE**

### **Teneur en composés phénoliques**

#### ***Extraction des composés phénoliques***

Deux grammes d'échantillon de pollen d'abeille ont été mélangés avec 40 mL d'éthanol à 80% dans un ballon à fond rond, et l'extraction a été effectuée à une puissance de micro-ondes de 200 W pendant 10 min. Après extraction, les extraits ont été filtrés, évaporés à 40°C et conservés jusqu'au analyses ultérieures.

#### ***Dosage des polyphénols totaux***

La teneur en composés phénoliques a été déterminé comme décrit par Georgé et al. (2005). 500 µL de l'extrait ont été ajoutés à 2,5 mL de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois). Après 5 min, 2 mL de carbonate de sodium (75 g/L) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 15 minutes et l'absorbance a été mesurée à 760 nm. La concentration en composés phénoliques a été déterminée par référence à la courbe d'étalonnage faite avec l'acide gallique et exprimée en mg d'acide gallique équivalent pour g de matière sèche (mg EAG/g MS).

### **Teneur en flavonoïdes**

Selon le protocole décrit par Al et al. (2009), 1 mL d'extrait a été mélangé avec 0,3 mL de nitrite de sodium à 5% (p/v). Après 5 minutes, 0,3 mL de chlorure d'aluminium à 10% (p/v) a été ajouté. Six minutes plus tard, 2 mL d'hydroxyde de sodium à 4% (p/v) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 510 nm et les résultats ont été exprimés en mg EQ/g MS.

### **Teneur en flavonols**

La teneur en flavonols a été quantifiée selon la méthode décrite par Miguel et al. (2010). Brièvement, à 50 µL d'échantillon, 200 µL d'AlCl<sub>3</sub> (2%) ont été ajoutés. Après 1 heure. L'absorbance a été mesurée à 420 nm, et les résultats ont été exprimés en mg EQ/g MS.

### **Teneur en proanthocyanidines**

Le dosage des proanthocyanidines a été déterminé par la méthode du HCL/Butanol comme décrit par Maksimovic et al. (2005). Une quantité de 500 µl d'extrait de pollen été mélangée avec 2 mL du réactif (HCL/butanol). Après 1 heure d'incubation au bain-marie à 95 °C, l'absorbance été lue à 530 nm. Les concentrations en proanthocyanidines ont été exprimées en mg équivalents de quercetine par g du pollen (mg EC/g MS).

### **Teneur en caroténoïdes**

L'extraction des caroténoïdes a été réalisée comme précédemment rapporté par Boussaid et al. (2018). 1 g d'échantillon a été agité vigoureusement avec 10 mL d'un mélange hexane-acétone (6:4) pendant 10 min à température ambiante et a ensuite été filtré. L'absorbance du filtrat a été mesurée à 450 nm par rapport à un blanc. Le bêta-carotène a été utilisé pour la courbe d'étalonnage. Ainsi, la teneur totale en caroténoïdes a été exprimée en mg d'équivalents β-carotène (mg β-carotène/g de MS).

## **ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DU POLLEN D'ABEILLE**

Cinq méthodes ont été utilisées pour dévoiler l'activité antiradicalaire et antioxydante de l'échantillon de pollen d'abeille : l'activité antiradicalaire contre le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•), l'activité antiradicalaire contre le radical cationique 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS•<sup>+</sup>), le pouvoir réducteur, le test phosphomolybdate et l'effet scavenger du radical hydroxyle (OH). Tous les dosages ont été déterminés par spectrophotométrie UV/Vis.

### Activité antiradicalaire DPPH

La capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH a été déterminé par la méthode de Milardovic et al. (2006). 100 µL d'échantillon ont été mélangés avec 2,9 mL de DPPH dans le méthanol ( $6.10^{-5}M$ ). Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 515 nm. La valeur de IC50 a été déterminée, et le pourcentage d'activité de piégeage a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{DPPH (\%)} = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{ext}}) / A_{\text{cont}}] \times 100 \quad (4)$$

Où :  $A_{\text{cont}}$  = absorbance du contrôle après 30 min et  $A_{\text{ext}}$  = absorbance de l'extrait.

### Activité antiradicalaire ABTS

Le piégeage radicalaire ABTS de l'extrait phénolique du pollen a été mesuré en utilisant la méthode donnée par Re et al. (1999). Les cations radicalaires ABTS (ABTS<sup>+</sup>) ont été formés en faisant réagir une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) avec une solution aqueuse de persulfate de potassium (2,45 mM). Le mélange a été laissé dans l'obscurité à température ambiante pendant 12-16 h avant utilisation et ensuite dilué avec de l'eau distillée pour obtenir une absorbance de  $0,700 \pm 0,005$  à 734 nm. 30 µL de l'échantillon ajouté à 3 mL de la solution radicalaire ABTS ont été laissé à température ambiante pendant 6 minutes et l'absorbance a été enregistrée immédiatement à 734 nm. La valeur de IC50 a été déterminée, et le pourcentage d'activité de piégeage a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{ABTS (\%)} = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{ext}}) / A_{\text{cont}}] \times 100 \quad (5)$$

Où :  $A_{\text{cont}}$  = absorbance du contrôle après 6 min et  $A_{\text{ext}}$  = absorbance de l'extrait.

### Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu, (1986). L'extrait (1 mL) a été mélangé avec 2,5 ml de 200 mmol/L de tampon phosphate de sodium (pH 6,6) et 2,5 mL de ferricyanure de potassium à 1%. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Après avoir ajouté 2,5 mL d'acide trichloroacétique à 10% (p/v), le mélange a été centrifugé à 650 tr/min pendant 10 minutes. La couche supérieure (5 mL) a été mélangée avec 5 mL d'eau distillée et 1 mL de chlorure ferrique à 0,1%, et l'absorbance a été mesurée à 700 nm. Les essais ont été réalisés en triple et les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent acide ascorbique par gramme de pollen (mg EAA/g MS).

### Test de phosphomolybdate

L'activité antioxydante totale de l'échantillon de pollen d'abeille a été évaluée par la méthode au phosphomolybdate comme décrit par Prieto et al. (1999). 1 mL de solution de réactifs (acide sulfurique 6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM) a été ajouté à 25 µL d'extrait éthanolique de pollen d'abeille et le mélange a été incubé pendant 90 min dans un bain-marie à 95 °C. Ensuite, l'absorbance a été lue à 695 nm et l'acide ascorbique a été utilisé comme standard pour la courbe. Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent acide ascorbique par gramme d'échantillon (mg EAA/g MS).

### Pouvoir scavenger du radical hydroxyle

L'activité scavenger des radicaux OH par l'extrait phénolique de pollen a été évaluée par la méthode de Rajamanikandan et al. (2011). Un volume de 0,5 mL de FeSO<sub>4</sub> (1,5 mM) et 0,35 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6 mM) plus 0,15 mL de salicylate de sodium (20 mM) ont été ajoutés à 0,5 mL d'extrait. Après vortex, les échantillons ont été incubés 1 heure à 37 °C dans un bain-marie, puis centrifugés pendant 3 min à 3 000 tours/min. L'absorbance a été ensuite mesurée à 562 nm. Le pourcentage de l'inhibition de l'oxydation du radical OH, correspondant à l'effet scavenger des extraits a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_0 - A_t) / A_0 \times 100 \quad (6)$$

Où : A<sub>0</sub> est l'absorbance du contrôle sans l'extrait et A<sub>t</sub> est l'absorbance du test avec l'extrait.

## OPTIMISATION DE LA PRÉPARATION DE L'EMBALLAGE ACTIF BIODEGRADABLE

L'étude du modèle de régression par la méthodologie de la surface de réponse (RSM) a été réalisée avec le logiciel JMP (Version 22, SAS, Cary, NC, USA). Un plan de Box-Behnken à trois niveaux pour chaque variable indépendante à trois répétitions de points centraux a été utilisé pour l'étude. Quinze formulations d'emballage ont été réalisés pour étudier les effets individuels et interactifs de trois variables indépendantes, à savoir, X<sub>1</sub>-concentration de l'extrait phénolique (%), X<sub>2</sub>-température de conservation (°C) et X<sub>3</sub>-temps de conservation (jour), sur les propriétés de la viande, Y<sub>1</sub>-pH et Y<sub>2</sub>-teneur en eau (%) pour obtenir la meilleure combinaison optimale. Dans le processus d'optimisation de la formulation du revêtement, les variables de réponse ont été liées à des variables indépendantes par une équation polynomiale du second ordre (Eq. 7).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{i < j}^k \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 \quad (7)$$

Où :  $X_i$ , variables indépendantes ;  $b_0$ , interception ;  $b_i$ ,  $b_{ii}$ ,  $b_{ij}$ , coefficients de régression, linéaire, quadratique et termes d'interaction ;  $k$ , nombre de variables. Le logiciel JMP a également été utilisé pour développer les équations du modèle, pour représenter graphiquement les courbes 3D des réponses, ainsi que pour prédire les conditions optimales des variables indépendantes. Ainsi, la fonction contenant ces trois variables indépendantes s'exprime comme suit :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 \quad (8)$$

La teneur en eau de la viande a été déterminée par séchage à 105 °C dans une étuve jusqu'à la stabilisation du poids. Cinq grammes de chaque échantillon ont été homogénéisés avec 50 ml d'eau distillée (1:10, p/v) puis filtrés et le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Dghais et al., 2023).

## ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE

### Souches microbiennes et conditions de croissance

L'extrait de pollen d'abeille a été évalué pour ses activités antimicrobiennes *in vitro*. Au total, 12 bactéries pathogènes ont été testés, dont 6 souches bactériennes à Gram positif et 6 souches bactériennes à Gram négatif (tableau 3).

**Tableau 3.** Les souches cibles.

	Souches	Gram
S <sub>1</sub>	<i>Bacillus cereus</i>	Gram <sup>+</sup>
S <sub>2</sub>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram <sup>+</sup>
S <sub>3</sub>	<i>Staphylococcus sp</i>	Gram <sup>+</sup>
S <sub>4</sub>	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram <sup>+</sup>
S <sub>5</sub>	<i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méticilline	Gram <sup>+</sup>
S <sub>6</sub>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram <sup>+</sup>
S <sub>7</sub>	<i>Escherichia coli</i>	Gram <sup>-</sup>
S <sub>8</sub>	<i>Acénitobacter</i>	Gram <sup>-</sup>
S <sub>9</sub>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram <sup>-</sup>
S <sub>10</sub>	<i>Pseudomonas sp</i>	Gram <sup>-</sup>
S <sub>11</sub>	<i>Enterobacter sp</i>	Gram <sup>-</sup>
S <sub>12</sub>	<i>Klebsiella pneumonie</i>	Gram <sup>-</sup>

Les bactéries à testées ont été cultivées sur des boîtes de Pétri contenant le milieu gélose nutritive et incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h.

### **Standardisation des souches et préparation de l'inoculum bactérien**

A partir des boîtes cultivées, l'inoculum bactérien a été préparé dans 3 ml de l'eau physiologique) sous agitation (200 tr/min) pendant 24 h à 37 °C. La densité optique lue à 625 nm variait de 0,080 à 0,100 ; une densité équivalente à  $10^7$  UFC/ml.

### **Evaluation de l'activité antimicrobienne du pollen d'abeille**

L'activité antibactérienne de l'extrait de pollen a été détectée par le test de diffusion en milieu gélosé, par la méthode des disques, comme décrit par Ben Hsouna et al. (2011). Cette méthode consiste à inoculée sur la surface des plaques de gélose Muller Hinton déjà solidifié, 100 µL d'une suspension bactérienne fraîchement préparée et ajustée à  $10^7$  UFC/mL, à l'aide d'un écouvillon stérile. Cependant, les levures ont étéensemencées à la surface de la gélose Muller Hinton. Des disques en papier wattman de 6 mm de diamètre, ont été alors placés en surface de la gélose, puis recevront 20 µL chacun des différentes concentrations de l'extrait de pollen à tester. Un contrôle négatif a été réalisé simultanément avec le diméthylsulfoxyde (DMSO) (20 µL). Après cela, les boites ont été mises dans le réfrigérateur à 4 °C pendant 2 heures pour faciliter la diffusion des extraits dans la gélose, puis incubée à 37 °C pendant 24 h. La lecture des résultats a été faite par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions autour des disques.

## CHAPITRE 4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### PROPRIÉTÉS TECHNO-FONCTIONNELLES

Les propriétés techno-fonctionnelles affectent directement ou indirectement la qualité des aliments et favorise leur acceptation et leur utilisation dans les formulations alimentaires (Singh et al. 2022). En raison de son effet sur la qualité des produits, la capacité de rétention d'eau (CRE) est économiquement une étape importante à valider par les industries alimentaires, cosmétiques et nutraceutiques (Laaroussi et al. 2023). L'échantillon de pollen d'abeille analysé a montré une valeur de  $0,30 \pm 0,08$  g/g (tableau 4). Cette valeur est inférieure de celles enregistrées pour vingt-six échantillons prélevés dans différentes zones ( $0,92-2,25$  g/g) (Kostic et al., 2015) et proche de celles rapportée par Thakur et Nanda (2020) pour trente-cinq échantillons de pollen d'abeilles où la CRE oscillait de  $0,47$  à  $0,72$  g/g. Ces différences pourraient être dues à un certain nombre de facteurs qui influencent l'absorption d'eau tels que les sucres chargés et non chargés, la composition et la conformation des protéines, en particulier les protéines insolubles contenant des parties hydrophiles, des lipides polaires et des minéraux qui jouent un rôle crucial dans le processus d'absorption d'eau (Kostic, et al., 2020).

**Tableau 4.** Propriétés techno-fonctionnelles du pollen d'abeille.

Propriétés techno-fonctionnelles	
Test	Valeur
Capacité de rétention d'eau (g/g)	$0,30 \pm 0,08$
Capacité de rétention d'huile (g/g)	$0,88 \pm 0,03$
Indice d'adsorption eau/huile	$0,41 \pm 0,01$
Capacité de gonflement (mL/g)	$2,40 \pm 0,00$

La capacité de rétention d'huile (CRH) de plusieurs produits alimentaires dépend principalement de leur capacité à piéger physiquement l'huile par un processus complexe d'attraction capillaire. Cette caractéristique est fortement dépendante de la présence de portions hydrophobes de composés insolubles (Laaroussi et al. 2023). Le pollen d'abeille analysé a montré une capacité de rétention d'huile de  $0,88 \pm 0,03$  g/g (tableau 1). Cette valeur se rapproche de la limite inférieure de la fourchette des résultats rapportées par Kostić et al. (2015) ( $1-3,53$  g/g), cependant qu'elle est inférieure aux valeurs rapportées par Thakur et Nanda (2019) ( $1,31-2,13$  g/g). Une excellente capacité d'absorption d'huile du pollen d'abeille a déjà été observée et attribuée au polymère complexe sporopollénine, composant majeur de l'exine de pollen, à la présence de parties hydrophobes de protéines ou d'autres composants insolubles (Kostić et al., 2020 ; Thakur et Nanda, 2019).

L'indice d'adsorption eau/huile de l'échantillon de pollen est de  $0,41 \pm 0,01$ . Cette valeur est conforme aux données de la littérature pour les échantillons de pollen d'origine différentes (Kostić et al., 2020 ; Laaroussi et al. 2023 ; Thakur et Nanda, 2019), démontrant les meilleures caractéristiques lipophiles qu'hydrophiles du pollen collecté.

La capacité de gonflement du pollen d'abeille analysé égale à  $2,40 \pm 0,00$  mL/g. Il existe une forte corrélation entre la capacité de gonflement et l'indice d'absorption d'eau des produits alimentaires (Singh et al. 2022). La capacité de gonflement dépend de la teneur en amylopectine, donc plus la teneur en amylopectine est faible, plus la capacité de gonflement sera faible. La teneur en amidon est responsable de l'augmentation de l'absorption d'eau et de l'amélioration du pouvoir gonflant (Mokhtar et al., 2022).

### **ANALYSE DES COMPOSÉS PHYTOCHIMIQUES**

Dans les plantes, les molécules bioactives sont produites en tant que métabolites secondaires impliqués dans la défense contre les agents pathogènes, les parasites et la lumière ultra-violet (UV). De plus, ces composés bioactifs peuvent protéger contre les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, montrant de bonnes activités antioxydantes et de piégeage des radicaux, avec plusieurs propriétés thérapeutiques (Bhaswant et al., 2023 ; Chiellini et al., 2022 Nieri et al., 2023). La composition phytochimique des échantillons de pollen, en particulier le type et la quantité de ses composés bioactifs, dépend de l'origine géographique et botanique, des caractéristiques du sol, des conditions climatiques et des activités de l'apiculteur (Gabriele et al., 2021 ; Kafantaris et al., 2021). L'échantillon ici analysé a été évalué pour la teneur totale en polyphénols, flavonoïdes, flavanols, proanthocyanidines et caroténoïdes. Les résultats obtenus sont répertoriés dans le tableau 5.

Les composés phénoliques sont l'une des classes moléculaires les plus représentatives dans le pollen apicole (Aylanc et al., 2023 ; Rodríguez-Flores et al., 2023). L'extrait phénolique du pollen d'abeille contenait  $6,53 \pm 0,29$  mg EAG/g MS. Le présent résultat concordait avec les données de la littérature faisant état de valeurs comprises entre environ 5 et 213,2 mg GAE/g (Martinello et al., 2021 ; Alimoglu et al., 2021 ; Araújo et al., 2017 ; Ares et al., 2018 ; Araújo et al., 2017 ; Barbieri et al., 2020). Cette gamme suggère une grande variabilité, probablement liée aux différentes origines botaniques et géographiques de tous les échantillons analysés. En particulier, la teneur totale en polyphénols de notre échantillon est similaire à celle des autres pollens d'abeilles, principalement ceux préalablement analysés par (Barbieri et al., 2020 ; Mutlu et al., 2023).

**Tableau 5.** Profil phytochimique et activité antioxydante de l'extrait phénolique du pollen d'abeille.

Profil phytochimique	
Test	Valeur
Composés phénoliques (mg EAG/g MS)	6,53 ± 0,29
Flavonoïdes (mg EQ/g MS)	1,89 ± 0,00
Flavonols (mg EQ/g MS)	0,23 ± 0,00
Proanthocyanidines (mg EAG/g MS)	0,46 ± 0,04
Caroténoïdes (mg EC/g MS)	0,49 ± 0,01
Activité antioxydante	
Test	Valeur
ABTS (IC50) (mg/mL d'extrait)	1,28 ± 0,02
DPPH (IC50) (mg/mL d'extrait)	9,55 ± 0,05
Pouvoir réducteur (mg EAG/g MS)	0,04 ± 0,01
Test phosphomolybdate (mg EAG/g MS)	0,65 ± 0,01
Effet scavenger du radical hydroxyle (IC50) (µg/mL d'extrait)	8,51 ± 0,09

La teneur en flavonoïdes de l'échantillon analysé, 1,89±0,00 mg EQ/g MS, est en accord avec certaines données de la littérature avec des valeurs comprises entre 0,30 et 79,21 mg QE/g (Alimoglu et al., 2021 ; Araújo et al., 2017 ; Gercek et al., 2021 ; De-Melo et al., 2018 ; Ketkar et al., 2014). Les échantillons de pollen d'abeilles analysés par Gercek et al. (2021), avaient une teneur moyenne en flavonoïdes de 79,21 mg EQ/g, supérieure à la nôtre (tableau 5). Ce dernier, en revanche, contenait une teneur plus élevée en flavonoïdes que quelques types de pollen d'abeille analysés par Mutlu et al. (2023). Les flavonols sont présent dans le pollen d'abeille analysé à raison de 0,23±0,00 mg EQ/g MS, ce résultat est inférieur à ceux détectés dans les pollens d'abeille analysés par Gabriele et al. (2015) avec des valeurs allant de 2,52±0,14 à 4,93±0,05 mg QE/g. Les proanthocyanidines font partie des pigments responsables de la coloration violette, rouge et bleue des fruits, des légumes et des fleurs. La teneur en proanthocyanidines détectée dans notre échantillon 0,46±0,04 mg EQ/g MS est comparable à celle rapportée par Sahin et al. (2019) (0.86±0.00 mg CE/g).

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux responsables, avec les flavonoïdes, de la couleur jaune/orange caractéristique du pollen d'abeille (Gardana et al., 2018). Les caroténoïdes peuvent réduire les radicaux libres et protéger contre la peroxydation des lipides (Rzepecka-Stojko et al., 2015). En effet, dans dix variétés de pollens d'abeilles du Brésil, les caroténoïdes étaient présents à l'état de trace jusqu'à 451,5 µg/g. En particulier, la teneur en caroténoïdes de

Bananeira (15,85 µg/g) et les pollens d'abeilles de *Pyrisica Branca* (12,38 µg/g), qui étaient inférieures à celle obtenus pour notre échantillon  $0,49 \pm 0,01$  mg β-carotène/g MS. Selon la littérature, la teneur moyenne en caroténoïdes déterminée dans différents pollens d'abeilles se situe dans une fourchette comprise entre 1,38 et 425,32 µg/g (Almeida-Muradian et al., 2005) (Mărgăoan et al., 2014). Par rapport à d'autres pays, la teneur en caroténoïdes du pollen d'abeille colombien (503,6–2149,0 mg de β-carotène/kg BP) dépassait celle du pollen d'abeille d'Espagne (12,41 mg/kg) (Domínguez-Valhondo et al., 2011), d'Allemagne (8,78 mg/kg) (Schulte et al., 2009), Slovaquie occidentale (223,10–261,33 mg/kg) (Fatrcova-Sramkova et al., 2016), Chili (2,8–50,2 mg/kg) (Velasquez et al., 2017) et Chine (271,6 mg/kg) (Xu et al., 2011).

### ACTIVITÉS ANTIOXYDANTE *IN VITRO*

Le pollen d'abeille peut être considéré comme un aliment fonctionnel en raison de son riche profil phytochimique et de ses excellentes propriétés nutraceutiques, capables d'exercer des effets bénéfiques sur la santé humaine. En effet, le pollen d'abeille est utilisé depuis des années comme complément alimentaire en raison de ses molécules antioxydantes (Alshallash et al., 2023). À ce jour, plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer les propriétés antioxydantes *in vitro*. En effet, un extrait est un mélange de plusieurs composés ayant des capacités différentes à terminer des processus radicalaires en chaîne pour lesquels plus d'un test est nécessaire pour déterminer sa capacité antioxydante (Gonçalves et al., 2021).

Dans ce travail, nous avons étudié la capacité antioxydante et l'activité de piégeage des radicaux libres *in vitro* de l'extrait phénolique du pollen d'abeille, à l'aide de cinq dosages chimiques, notamment, le l'ABTS (IC50), le DPPH (IC50), le pouvoir réducteur, le test de phosphomolybdate et l'effet scarvengueur du radical hydroxyle (tableau 5), qui couvrent plusieurs mécanismes d'action. A une valeur IC50 de  $1,28 \pm 0,02$  mg/mL d'extrait fournissant 50% d'inhibition des radicaux ABTS•. Comme indiqué dans la littérature, les échantillons de pollen d'abeille montrent généralement des valeurs IC50 plus élevées, allant de 0,91 à 5,73 mg/mL d'extrait, confirmant une bonne capacité de piégeage des radicaux de notre échantillon (Araújo et al., 2017 ; Asmae et al., 2021 ; Lopes et al., 2020). D'autre part, la capacité de notre échantillon de pollen d'abeille à inhiber 50% des radicaux organiques DPPH• en solution a été rapportée dans le tableau 5 comme IC50, correspondant à  $9,55 \pm 0,05$  mg/mL d'extrait. Généralement, pour le pollen d'abeille, la plage des valeurs IC50 rapportées dans la littérature est de 0,01 à 7,99 mg/mL, et la valeur IC50 obtenue pour notre échantillon est comparable aux autres pollens décrits, indiquant une puissante capacité à inhiber les radicaux DPPH• (Araújo

et al., 2017 ; Asmae et al., 2021 ; Lopes et al., 2020 ; Atsalakis et al., 2017 ; Saral et al., 2019 ; Asmae et al., 2021 ; Lopes et al., 2020 ; Atsalakis et al., 2017 ; Saral et al., 2019).

Le résultat du test phosphomolybdate,  $0,65 \pm 0,01$  mg EAG/g MS, de l'extrait phénolique du pollen d'abeille est supérieur à celui du pollen d'abeille Algérien décrit par Rebiai et al. (2012) avec une valeur de  $0,10$  mg EAG/g MS. Cependant que la valeur obtenue pour le test du pouvoir réducteur, pour mesurer le potentiel de réduction ( $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ ) des composés bioactifs dans l'échantillons de pollen d'abeille, correspondant à  $0,04 \pm 0,01$  mg EAG/g MS, se situe dans la fourchette des valeurs obtenues par obtenues par (Laaroussi et al., 2023). Enfin, l'effet scavengeur du radical hydroxyle de l'échantillon de pollen apicole a également été évaluée ( $IC_{50} = 8,51 \pm 0,09$   $\mu\text{g/mL}$  d'extrait). Cette valeur démontre la bonne capacité de notre échantillon à inhiber le radical hydroxyle, exerçant un effet antioxydant important. Toutes ces méthodes donnent lieu à des résultats cohérents et, pour chacune, notre échantillon de pollen d'abeille a montré une bonne activité antioxydante, une activité de piégeage des radicaux libres et une capacité de chélation des métaux.

#### 4 .4. PLAN DE SURFACE DE REPONSE

Le développement de l'emballage actif biodégradable a été réalisé sur la base du plan d'expérience de Box Behnken (BBD), adopté pour évaluer l'influence de l'extrait phénolique du pollen d'abeille en tant qu'ingrédient actif. La matrice de conception avec un total de 15 essais expérimentaux a été réalisés pour étudier les effets individuels et interactifs de trois variables indépendantes, à savoir,  $X_1$ -concentration de l'extrait phénolique (%),  $X_2$ -température de conservation ( $^{\circ}\text{C}$ ) et  $X_3$ -temps de conservation (jour), sur les propriétés de la viande,  $Y_1$ -pH et  $Y_2$ -teneur en eau (%), comme indiqué dans le tableau 6. Les critères de sélection des conditions de traitement, qui ont un impact significatif sur le développement des films, ont été définis en tenant compte des valeurs rapportées dans la littérature et fixés par la réglementation.

**Tableau 6.** Plan d'expériences de Box-Behnken avec des valeurs expérimentales et prédites pour le pH et la teneur en eau de la viande.

Variables dépendantes		Variables indépendantes						
		Niveau -1			Niveau 0		Niveau +1	
X <sub>1</sub> -Concentration de l'extrait (%)		8 (-1)			11,5 (0)		15 (+1)	
X <sub>2</sub> -Température (°C)		1 (-1)			4 (0)		7 (+1)	
X <sub>3</sub> -Temps (jour)		1 (-1)			4 (0)		7 (+1)	
N°	Point	X <sub>1</sub> - Concentration de l'extrait (%)	X <sub>2</sub> - Température (°C)	X <sub>3</sub> - Temps (jour)	Y <sub>1</sub> - pH	Y <sub>2</sub> -Teneur en eau (%)	Valeurs prévues : Y <sub>1</sub> -pH	Valeurs prévues : Y <sub>2</sub> - Teneur en eau
1	0++	11,5	1	7	5,47	23,74	5,45	24,43
2	--+0	8	7	4	5,25	34,81	5,24	35,27
3	+0--	15	4	1	5,66	40,17	5,65	39,91
4	---0	8	1	4	5,57	39,82	5,58	38,87
5	-0--	8	4	1	5,46	38,65	5,45	38,87
6	000	11,5	4	4	5,63	39,24	5,61	39,57
7	++0	15	7	4	5,50	34,55	5,49	35,50
8	0+-	11,5	7	1	5,34	38,66	5,36	37,98
9	-0+	8	4	7	5,32	21,74	5,33	22,00
10	+-0	15	1	4	5,65	40,09	5,66	39,63
11	0--	11,5	1	1	5,69	39,85	5,69	40,57
12	000	11,5	4	4	5,60	39,65	5,61	39,57
13	0++	11,5	7	7	5,29	20,01	5,29	19,29
14	000	11,5	4	4	5,59	39,81	5,61	39,57
15	+0+	15	4	7	5,46	22,17	5,47	21,95

Après qu'un modèle polynomial quadratique a été ajusté à chaque réponse, son optimisation simultanée a été effectuée en utilisant la technique de régression linéaire. Le logiciel JMP a été utilisé pour analyser les données et tracer les graphiques des propriétés de la viande. La capacité d'augmenter la durée de conservation des produits carnés, tout en maintenant leurs propriétés, est l'une des caractéristiques les plus importantes des films utilisés dans les emballages. Elle est essentielle à la garantie de la durée de conservation du produit emballé.

Le pH est un paramètre de qualité de la viande, des valeurs faibles indiquent une éventuelle altération du produit. Les résultats du pH des échantillons de viande variaient de 5,25 à 5,69 du premier jusqu'au septième jour de stockage (tableau 6). La concentration de l'extrait phénolique du pollen d'abeille avait une influence positive sur cette propriété. Les valeurs les plus élevées ont été observées lorsque de fortes concentrations étaient utilisées (11,5 et 15%).

L'utilisation de d'extrait phénolique du pollen d'abeille comme ingrédient actif dans l'élaboration de l'emballage pourrait permettre un maintien et une stabilisation du pH des échantillons, ce qui prolonge la durée de conservation de la viande. Les molécules bioactives du pollen d'abeilles, qui devrait exercés un effet antioxydant et antimicrobien, sont responsables de ce résultat, comme également rapporté par d'autres auteurs. Cependant que pour la teneur en eau des échantillons de viande, qui variaient de 22,17 à 40,17%, l'effet inverse était observé dans lequel une température et une durée de stockage plus élevés entraînaient des échantillons de viande avec des teneurs en eau plus faibles (Figure 3).

Des surfaces de réponses tridimensionnelles (3D) ont été développée pour comprendre l'effet d'interaction entre tous les facteurs en évaluant deux variables à la fois sur chaque réponse. Les figures 3A et 3D montrent l'effet interactif de la concentration de l'extrait phénolique et la température de conservation sur le pH et la teneur en eau de la viande, respectivement. Les surfaces de réponses des figures 3B et 3E montrent qu'une augmentation de la concentration de l'extrait phénolique a stabilisé le pH de la viande, tandis qu'une augmentation de la durée de stockage provoque une diminution de la teneur en eau des échantillons. Les figures 3C et 3F montrent l'effet interactif de la température et du temps de conservation sur le pH la teneur en eau, respectivement. Une augmentation de ces deux paramètres engendre une diminution de la teneur en eau de la viande.

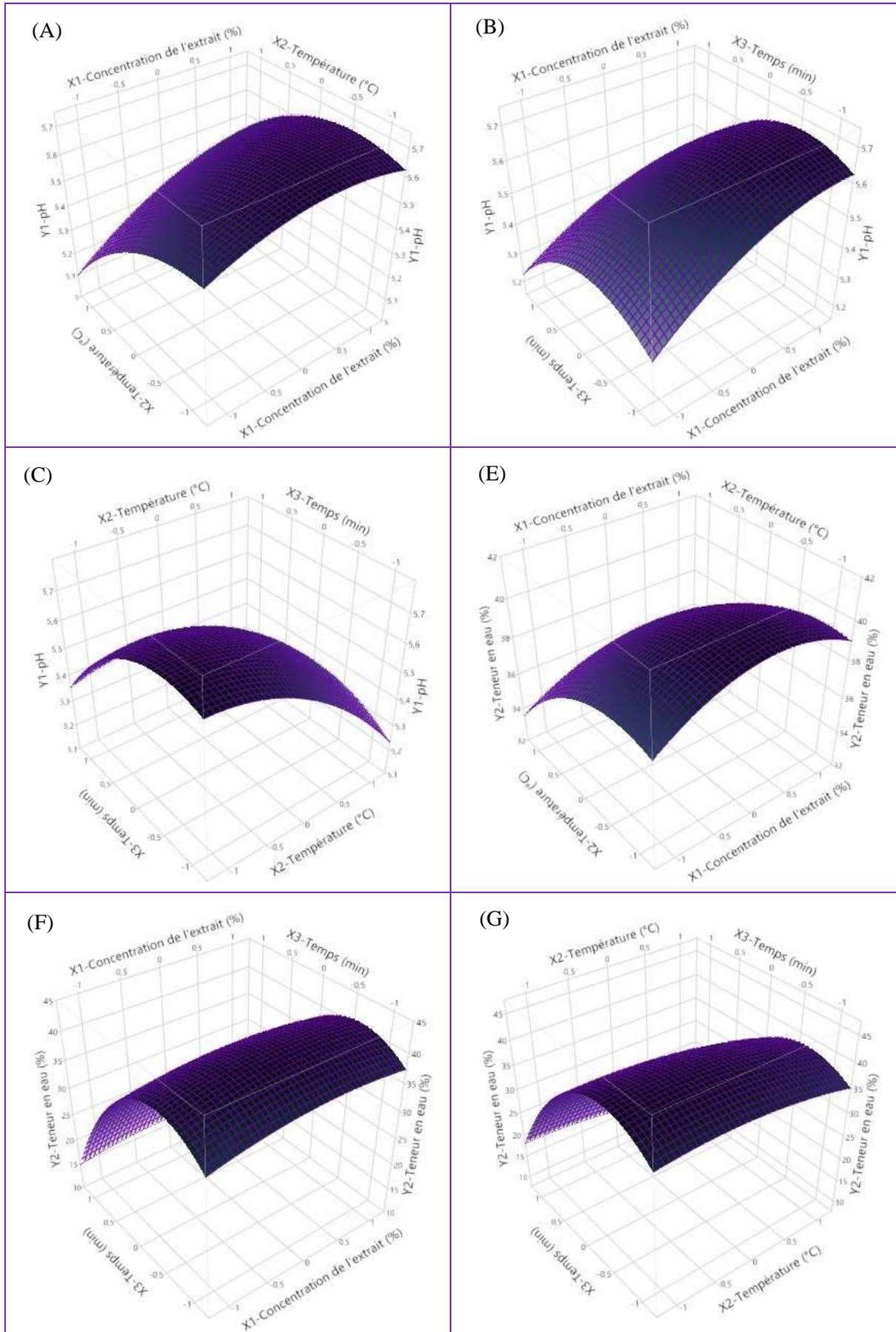


Figure 3. Surfaces de réponses tridimensionnelles (3D).

L'analyse de la variance (ANOVA) du modèle quadratique de surface de réponse pour l'emballage actif biodégradable est présentée dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Analyse de la variance (ANOVA) pour le modèle polynomial quadratique.

Y <sub>1</sub> -pH						
Source	Estimatio	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Prob. > F	
Modèle	5,61	9	0,2908	83,21	<,0001*	
X <sub>1</sub> -Concentration de l'extrait (%)	0,08	1	0,0561	144,50	<,0001*	
X <sub>2</sub> -Température (°C)	-0,13	1	0,1250	321,89	<,0001*	
X <sub>3</sub> -Temps (jour)	-0,08	1	0,0456	119,78	0,0001*	
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	0,04	1	0,0072	18,61	0,0076*	
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	-0,02	1	0,0009	2,32	0,1884	
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	0,04	1	0,0072	18,61	0,0076*	
X <sub>1</sub> *X <sub>1</sub>	-0,04	1	0,0069	17,85	0,0083*	
X <sub>2</sub> *X <sub>2</sub>	-0,07	1	0,0185	47,71	0,0010*	
X <sub>3</sub> *X <sub>3</sub>	-0,09	1	0,0288	74,19	0,0003*	
Défaut d'ajustement	-	3	0,0011	0,83	0,59	
Erreur pure	-	2	0,0009	-	-	
Erreur totale	-	5	0,0019	-	-	
R <sup>2</sup>	0,9934	-	-	-	-	
R <sup>2</sup> ajusté	0,9814	-	-	-	-	
RMSE	0,0197	-	-	-	-	
Y <sub>2</sub> -Teneur en eau (%)						
Source	Estimatio	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Prob. > F	
Modèle	39,57	9	866,7367	104,4911	<,0001*	
X <sub>1</sub> -Concentration de l'extrait (%)	0,25	1	0,4802	0,5210	0,5027	
X <sub>2</sub> -Température (°C)	-1,93	1	29,9151	32,4583	0,0023*	
X <sub>3</sub> -Temps (jour)	-8,71	1	606,7386	658,3190	<,0001*	
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-0,13	1	0,0702	0,0762	0,7936	
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	-0,27	1	0,2970	0,3223	0,5948	
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	-0,64	1	1,6129	1,7500	0,2431	
X <sub>1</sub> *X <sub>1</sub>	-1,07	1	4,1945	4,5510	0,0860	
X <sub>2</sub> *X <sub>2</sub>	-1,18	1	5,1703	5,6098	0,0641	
X <sub>3</sub> *X <sub>3</sub>	-7,82	1	225,6972	244,8843	<,0001*	
Défaut d'ajustement	-	3	4,4354	17,11	0,06	
Erreur pure	-	2	0,1729	-	-	
Erreur totale	-	5	4,6082	-	-	
R <sup>2</sup>	0,9947	-	-	-	-	
R <sup>2</sup> ajusté	0,9851	-	-	-	-	
RMSE	0,9600	-	-	-	-	

Les résultats ont montré que le modèle était significatif à un niveau de confiance de 95% ( $p < 0,05$ ). Cela indiquait que le modèle quadratique pouvait expliquer un pourcentage élevé de variabilité dans les données observées. Le tableau 7 montre également que la valeur F (94,9) et le « Prob. > La valeur F du modèle était inférieure à 0,05, ce qui indiquait que le modèle était significatif. La « valeur F du manque d'ajustement » de 0,006 indiquée dans le tableau 7 implique que le manque d'ajustement n'était pas significatif. Sur la base des résultats obtenus, la valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) était de 0,9925, ce qui était raisonnablement proche de 1, donc acceptable. Cette valeur  $R^2$  impliquait qu'environ 99,25 % des résultats expérimentaux pouvaient être expliqués par le modèle ajusté sur la gamme de facteurs testés. Le  $R^2$  prédit était en accord raisonnable avec le  $R^2$  ajusté. La valeur  $R^2$  ajustée est particulièrement utile lors de la comparaison de modèles avec un nombre différent de termes.

Les résultats de l'ANOVA ont démontré que le terme du modèle linéaire de la concentration de l'extrait ( $X_1$ ) avait un effet significatif ( $p < 0,05$ ) sur le pH ( $Y_1$ ) et la teneur en eau de la viande ( $Y_2$ ). En outre, les termes quadratiques ( $X_1X_2$  et  $X_2X_3$ ) pour la réponse  $Y_1$  ont également montré un effet significatif ( $p < 0,05$ ) sur le modèle. L'équation du modèle obtenu a été dérivée en utilisant le coefficient de régression sur les termes linéaires et d'interaction pour s'adapter à un modèle de surface de réponse complète. Le meilleur modèle explicatif selon l'analyse de régression du modèle a été donné comme suit :

$$Y_{\text{pH}} = 5,61 + 0,08X_1 - 0,13X_2 - 0,08X_3 + 0,04X_1X_2 - 0,02X_1X_3 + 0,04X_2X_3 - 0,04X_1^2 - 0,07X_2^2 - 0,09X_3^2$$

$$Y_{\text{TE}} = 39,57 + 0,25X_1 - 1,93X_2 - 8,71X_3 - 0,13X_1X_2 - 0,27X_1X_3 - 0,64X_2X_3 - 1,07X_1^2 - 1,18X_2^2 - 7,82X_3^2$$

#### 4.5. ACTIVITÉ ANTIBACTERIENNE *IN VITRO*

L'activité antibactérienne de l'extrait de pollen d'abeille, testée *in vitro* contre différentes bactéries pathogènes, sont présentées dans le tableau 8. Nous avons observé que les diamètres des zones d'inhibition pour les bactéries Gram positives variaient entre 11 et 18 mm à la fin de la période d'incubation de 24 heures. De plus, pour les bactéries Gram négatives, il a été observé que les diamètres des zones d'inhibition variaient entre 13 et 15 mm. Selon l'analyse, parmi les bactéries testées, *Bacillus cereus* a été la plus sensible, et la sensibilité des bactéries a diminué comme suit : *Staphylococcus sp* et *Pseudomonas sp* (15 mm) > *Pseudomonas aeruginosa* (14 mm) > *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Enterobacter sp* (13 mm) > *Acénitobacter* (12 mm) > *Staphylococcus aureus* (11 mm), respectivement. Cependant, aucun effet antibactérien n'a été observé sur quelques bactéries testées, à savoir, *Bacillus subtilus* et *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline du Gram positif et *Klebsiella pneumonie* du Gram négatif.

**Tableau 8.** Activité antibactérienne de l'extrait de pollen d'abeille.

DIAMÈTRES DE LA ZONE D'INHIBITION (MM)		TRANSCRIPTION	SENSIBILITE DU GERME
Ø = 0		0	Résistant
Ø < 8		-	Non sensible
9 < Ø < 14		+	Sensible
15 < Ø < 19		++	Très sensible
Ø > 20		+++	Extrêmement sensible
ECHANTILLON	SOUCHE	SGRAM	ZONE D'INHIBITION (MM)
S1	<i>Bacillus cereus</i>	Gram <sup>+</sup>	18 (T)
S2	<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram <sup>+</sup>	13 (S)
S3	<i>Staphylococcus sp</i>	Gram <sup>+</sup>	15 (T)
S4	<i>Bacillus subtilus</i>	Gram <sup>+</sup>	-
S5	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram <sup>+</sup>	-
S6	<i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méticillne	Gram <sup>+</sup>	11 (S)
S7	<i>Escherichia coli</i>	Gram <sup>-</sup>	13 (S)
S8	<i>Acénitobacter</i>	Gram <sup>-</sup>	12 (S)
S9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram <sup>-</sup>	14 (S)
S10	<i>Pseudomonas sp</i>	Gram <sup>-</sup>	15 (T)
S11	<i>Enterobacter sp</i>	Gram <sup>-</sup>	13 (S)
S12	<i>Klebsiella pneumonie</i>	Gram <sup>-</sup>	-

Gercek et al. (2022) ont déclaré que les bactéries Gram positives étaient plus sensibles à l'extrait de pollen apicole que les bactéries Gram négatives. Cependant, il convient de noter que notre étude a obtenu des zones d'inhibition comparable à cette étude. Mohdaly et al. (2015) ont étudié les propriétés antibactériennes des extraits de pollen. De même, les extraits de pollen se sont avérés efficaces contre les bactéries Gram positives et Gram négatives. Lorsque tous ces résultats sont considérés ensemble, il devient clair que les résultats de cette étude sont également cohérents avec les résultats obtenus dans notre étude. De plus, Cabrera et al. (2013) ont déterminé l'activité antimicrobienne de l'extrait de pollen. Ces chercheurs ont trouvé des zones d'inhibition plus élevées pour les extraits de pollen par rapport à notre étude. En conclusion, lorsque l'activité antibactérienne est considérée, les résultats de cette étude indiquent que l'échantillon de pollen analysé a un effet inhibiteur contre les pathogènes d'origine alimentaire à diverses concentrations. Comme on peut le voir, ces résultats sont tout à fait cohérents avec ceux publiés précédemment dans la littérature et corroborent ceux-ci.

De nombreux chercheurs ont observé que l'activité antibactérienne des extraits de pollen pouvait être attribuée à la teneur élevée en composés phénoliques. Des exemples de ces composés phénoliques comprennent les acides *p*-coumarique, caféique et ellagique, la galangine, la pinocembrine et la tectochrysin et les flavonoïdes. Ceux-ci se trouvent dans le pollen tel que glucosides, quercétine et kaempférol. Toutes sont variables selon leur source florale (Erkmen et Ozcan, 2008). Le mode d'action des flavonoïdes et d'autres composés phénoliques a été pris en compte, notamment les dommages à la membrane cytoplasmique, l'inhibition de la topoisomérase, l'inhibition de la NADH-cytochrome c réductase et l'inhibition de l'ATP synthase (Cushnie et Lamb, 2011). Les flavonoïdes ont des mécanismes d'action impliquant les membranes cellulaires (Tsuchiya, 2015 ; Verstraeten et al., 2015).

## CONCLUSION

Le développement de ce travail a permis une optimisation de l'élaboration d'un film biodégradable actif, applicable pour le conditionnement des viandes de bœuf, en utilisant la méthodologie de surface réponse via un plan d'expériences de Box-Behnken, constituant ainsi une alternative prometteuse pour la valorisation des produits de l'apiculture.

L'échantillon de pollen d'abeille analysé a montré une capacité de rétention d'eau de  $0,30 \pm 0,08$  g/g, un paramètre qui influence la stabilité du produit au cours de la conservation, une capacité de rétention d'huile de  $0,88 \pm 0,03$  g/g, et une capacité de gonflement de  $2,40 \pm 0,00$  mL/g. Après analyse phytochimique, la richesse du pollen d'abeille en composés phénoliques ( $6,53 \pm 0,29$  mg EAG/g MS), en flavonoïdes ( $1,89 \pm 0,00$  mg EQ/g MS), en caroténoïdes ( $0,49 \pm 0,01$  mg  $\beta$ -carotène/g MS), en flavonols ( $0,23 \pm 0,00$  mg EQ/g MS) et en proanthocyanidines ( $0,46 \pm 0,04$  mg EAG/g MS) a été constaté. Avec une activité antiradicalaire représenté par des valeurs IC<sub>50</sub> des radicaux : ABTS, DPPH et hydroxyle de  $1,28 \pm 0,02$  mg/mL,  $9,55 \pm 0,05$  mg/mL et  $8,51 \pm 0,09$   $\mu$ g/mL d'extrait, respectivement, et une activité antioxydante représenté par le pouvoir réducteur ( $0,04 \pm 0,01$  mg EAG/g MS) et le test phosphomolybdate ( $0,65 \pm 0,01$  mg EAG/g MS). Cette richesse permet d'assurer un effet préventif de nombreuses pathologies, en luttant contre le stress oxydatif. L'activité antibactérienne de l'extrait de pollen d'abeille, testée *in vitro* contre différentes souches bactériennes, a révélé des diamètres des zones d'inhibition qui variaient entre 11 et 18 mm pour les bactéries Gram positif et des valeurs qui variaient entre 13 et 15 mm pour les bactéries Gram négatif. La bactérie la plus sensible été *Bacillus cereus*.

L'innovation d'un emballage actif antimicrobien à base de pollen d'abeille pour les produits carnés représente une avancée significative dans l'industrie alimentaire. Cette approche offre des avantages tant du point de vue de la sécurité alimentaire que de la durée de conservation, tout en répondant aux attentes des consommateurs en matière de produits plus naturels. Avec des efforts continus de recherche et de développement, cette innovation a le potentiel de devenir une solution largement adoptée par l'industrie alimentaire, contribuant ainsi à améliorer la qualité des produits carnés.

L'objectif futur pour l'emballage de la viande est de développer un emballage actif enrichi d'antioxydants naturels nano-encapsulés ou de composants antimicrobiens qui prolongeront la durée de conservation du produit et élimineront complètement la possibilité de croissance microbienne et d'oxydation dans les aliments frais ou viande et/ou produits laitiers transformés.

L'utilisation de matériaux d'emballage biosourcés et biodégradables et/ou leur combinaison ainsi que de matériaux comestibles là où il est possible de les appliquer.

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Aleksanyan, K. V. (2023). Polysaccharides for biodegradable packaging materials: Past, present, and future (Brief Review). *Polymers*, *15*(2), 451.
- Alimoglu, G., Guzelmeric, E., Yuksel, P. I., Celik, C., Deniz, I., & Yesilada, E. (2021). Monofloral and polyfloral bee pollens: Comparative evaluation of their phenolics and bioactivity profiles. *Lwt*, *142*, 110973.
- Alizadeh-Sani, M., Ehsani, A., Moghaddas Kia, E., & Khezerlou, A. (2019). Microbial gums: Introducing a novel functional component of edible coatings and packaging. *Applied microbiology and biotechnology*, *103*, 6853-6866.
- Almeida-Muradian, L. B. d., Pamplona, L. C., Coimbra, S. I., & Barth, O. M. (2005). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of food composition and analysis*, *18*(1), 105-111.
- Alshallash, K. S., Abolaban, G., Elhamamsy, S. M., Zaghlool, A., Nasr, A., Nagib, A., . . . Hamdy, A. E. (2023). Bee Pollen as a Functional Product—Chemical Constituents and Nutritional Properties. *Journal of Ecological Engineering*, *24*(2).
- Alvarez-Suarez, J. M. (2017). *Bee products-chemical and biological properties*: Springer.
- Anushikha, & Gaikwad, K. K. (2023). Lignin as a UV blocking, antioxidant, and antimicrobial agent for food packaging applications. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-13.
- Araújo, J. S., Chambó, E. D., Costa, M. A. P. d. C., Cavalcante da Silva, S. M. P., Lopes de Carvalho, C. A., & M. Estevinho, L. (2017). Chemical composition and biological activities of mono-and heterofloral bee pollen of different geographical origins. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(5), 921.
- Ares, A. M., Valverde, S., Bernal, J. L., Nozal, M. J., & Bernal, J. (2018). Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *147*, 110-124.
- Asmae, E. G., Nawal, E. M., Bakour, M., & Lyoussi, B. (2021). Moroccan monofloral bee pollen: botanical origin, physicochemical characterization, and antioxidant activities. *Journal of Food Quality*, *2021*, 1-10.
- Atsalakis, E., Chinou, I., Makropoulou, M., Karabournioti, S., & Graikou, K. (2017). Evaluation of phenolic compounds in *Cistus creticus* bee pollen from Greece. Antioxidant and antimicrobial properties. *Natural Product Communications*, *12*(11), 1934578X1701201141.

- Alexandra Vey., (2022). Apithérapie : les vertus du pollen. Compte-rendu du rucher-école de Salvizinet (<http://abeilleduforez.tetraconcept.com/dossiers-techniques/pratique-apicole-a-lamiellerie/les-vertus-du-pollen/>)
- Aylanc, V., Larbi, S., Calhelha, R., Barros, L., Rezouga, F., Rodríguez-Flores, M. S., . . . Falcão, S. I. (2023). Evaluation of Antioxidant and Anticancer Activity of Mono-and Polyfloral Moroccan Bee Pollen by Characterizing Phenolic and Volatile Compounds. *Molecules*, 28(2), 835.
- Azman, N., Khairul, W. M., & Sarbon, N. (2022). A comprehensive review on biocompatible film sensor containing natural extract: Active/intelligent food packaging. *Food Control*, 141, 109189.
- Baky, M. H., Abouelela, M. B., Wang, K., & Farag, M. A. (2023). Bee Pollen and Bread as a Super-Food: A Comparative Review of Their Metabolome Composition and Quality Assessment in the Context of Best Recovery Conditions. *Molecules*, 28(2), 715.
- Bangar, S. P., Esua, O. J., Nickhil, C., & Whiteside, W. S. (2023). Microcrystalline cellulose for active food packaging applications: A review. *Food Packaging and Shelf Life*, 36, 101048.
- Bansal, P., Morgat, A., Axelsen, K. B., Muthukrishnan, V., Coudert, E., Aimo, L., . . . Neto, T. B. (2022). Rhea, the reaction knowledgebase in 2022. *Nucleic acids research*, 50(D1), D693-D700.
- Barbieri, D., Gabriele, M., Summa, M., Colosimo, R., Leonardi, D., Domenici, V., & Pucci, L. (2020). Antioxidant, nutraceutical properties, and fluorescence spectral profiles of bee pollen samples from different botanical origins. *Antioxidants*, 9(10), 1001.
- Bhargava, N., Sharanagat, V. S., Mor, R. S., & Kumar, K. (2020). Active and intelligent biodegradable packaging films using food and food waste-derived bioactive compounds: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 385-401.
- Bhaswant, M., Shanmugam, D. K., Miyazawa, T., Abe, C., & Miyazawa, T. (2023). Microgreens—A Comprehensive Review of Bioactive Molecules and Health Benefits. *Molecules*, 28(2), 867.
- Bizymis, A.-P., & Tzia, C. (2022). Edible films and coatings: Properties for the selection of the components, evolution through composites and nanomaterials, and safety issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(31), 8777-8792.
- Brahim, S. ; Elsayed, H.; Hasanin, M. Biofilm biodégradable, antimicrobien et antioxydant pour emballage actif à base de Biodéchets extraits de gélatine et de lignocelluloses. *J. Polym. Environ.* 2021.
- BRACHEMI Karima, MOUSSAOUI Nabila .Caractérisation du profil en acide gras et l'étude de l'activité antioxydante de pollen d'abeille de trois origines florales (Cytise, Ciste et Sainfoin) Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme de Master en Agroalimentaire et contrôle de qualité. Université de Tizi-Ouzou. 2018.
- Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21(7), 901.

- Cabrera, C., & Montenegro, G. (2013). Pathogen control using a natural Chilean bee pollen extract of known botanical origin. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 40(1), 223-230.
- Cherif E. Packaging l'inévitable défis des IAA.2016
- Chiellini, C., Serra, V., Gammuto, L., Ciurli, A., Longo, V., & Gabriele, M. (2022). Evaluation of nutraceutical properties of eleven microalgal strains isolated from different freshwater aquatic environments: Perspectives for their application as nutraceuticals. *Foods*, 11(5), 654.
- Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J., & Burlando, B. (2017). Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. *Frontiers in pharmacology*, 412.
- Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 38(2), 99-107.
- Daien, C., Hua, C., Gaujoux-Viala, C., Cantagrel, A., Dubremetz, M., Dougados, M., . . . Richez, C. (2019). Actualisation des Recommandations de la Société française de rhumatologie pour la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde. *Revue du rhumatisme*, 86(1), 8-24.
- Daniloski, D., Gjorgijoski, D., & Trajkovska Petkoska, A. (2020). Advances in active packaging: perspectives in packaging of meat and dairy products. *Advanced Materials Letters*, 11(5), 1-10.
- De-Melo, A. A. M., Estevinho, L. M., Moreira, M. M., Delerue-Matos, C., de Freitas, A. d. S., Barth, O. M., & de Almeida-Muradian, L. B. (2018). A multivariate approach based on physicochemical parameters and biological potential for the botanical and geographical discrimination of Brazilian bee pollen. *Food Bioscience*, 25, 91-110.
- Denisow, B., & Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303-4309.
- Domínguez-Valhondo, D., Bohoyo Gil, D., Hernández, M. T., & González-Gómez, D. (2011). Influence of the commercial processing and floral origin on bioactive and nutritional properties of honeybee-collected pollen. *International journal of food science & technology*, 46(10), 2204-2211.
- El-Guendouz, S., Lyoussi, B., & Miguel, M. G. (2020). Insight into the chemical composition and biological properties of Mediterranean royal jelly. *Journal of Apicultural Research*, 59(5), 890-909.
- El Ghouzi, A., Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaaid, D., El Menyiy, N., Hano, C., & Lyoussi, B. (2023). Bee Pollen as Functional Food: Insights into Its Composition and Therapeutic Properties. *Antioxidants*, 12(3), 557.
- Erkmen, O., & Özcan, M. M. (2008). Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. *Journal of medicinal food*, 11(3), 587-592.

- Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Máriássyová, M., & Kačániová, M. (2016). Biologically active antimicrobial and antioxidant substances in the *Helianthus annuus* L. bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(3), 176-181.
- Feás, X., Vázquez-Tato, M. P., Estevinho, L., Seijas, J. A., & Iglesias, A. (2012). Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17(7), 8359-8377.
- Frédéric DEBEAUFORT, Kata GALIĆ, Mia KUREK, Nasreddine BENBETTAIEB et Mario ŠČETAR. *Matériaux et procédés d'emballage pour les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques*, 2022 (*Matériaux et procédés d'emballage pour les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques*, coordonné par Frédéric DEBEAUFORT, Kata GALIĆ, Mia KUREK, Nasreddine BENBETTAIEB et Mario ŠČETAR. © ISTE Editions 2022.)
- Fuente-Ballesteros, A., Privolos, I., Ares, A. M., Samanidou, V., & Bernal, J. (2023). GREEN SAMPLE PREPARATION METHODS FOR THE ANALYSIS OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN BEE PRODUCTS: A REVIEW. *Advances in Sample Preparation*, 100060.
- Gabriele, M., Frassinetti, S., & Pucci, L. (2021). Antimicrobial activity and protective effect of Tuscan bee pollens on oxidative and endoplasmic reticulum stress in different cell-based models. *Foods*, 10(6), 1422.
- Gabriele, M., Parri, E., Felicioli, A., Sagona, S., Pozzo, L., Biondi, C., . . . Pucci, L. (2015). Phytochemical composition and antioxidant activity of Tuscan bee pollen of different botanic origins. *Italian Journal of Food Science*, 27(2), 248.
- Gardana, C., Del Bo, C., Quicazán, M. C., Correa, A. R., & Simonetti, P. (2018). Nutrients, phytochemicals and botanical origin of commercial bee pollen from different geographical areas. *Journal of food composition and analysis*, 73, 29-38.
- Gonçalves, S., Mansinhos, I., Rodríguez-Solana, R., Pereira-Caro, G., Moreno-Rojas, J. M., & Romano, A. (2021). Impact of Metallic Nanoparticles on In Vitro Culture, Phenolic Profile and Biological Activity of Two Mediterranean Lamiaceae Species: *Lavandula viridis* L'Hér and *Thymus lotocephalus* G. López and R. Morales. *Molecules*, 26(21), 6427.
- Gontard, N., Guillard, V., Gaucel, S., & Guillaume, C. (2017). L'emballage alimentaire et l'innovation écologique dans toutes leurs dimensions. *Innovations agronomiques*, 58, 1-9.
- Graikou, K., Kapeta, S., Aligiannis, N., Sotiroudis, G., Chondrogianni, N., Gonos, E., & Chinou, I. (2011). Chemical analysis of Greek pollen-Antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. *Chemistry Central Journal*, 5, 1-9.
- Harif Fadzilah, N., Jaapar, M. F., Jajuli, R., & Wan Omar, W. A. (2017). Total phenolic content, total flavonoid and antioxidant activity of ethanolic bee pollen extracts from three species of Malaysian stingless bee. *Journal of Apicultural Research*, 56(2), 130-135.
- Hernundez-Camacho, JD ; Bernier, M.; López-Lluch, G.; Navas, P.(2018).Supplémentation en coenzyme Q10 dans le vieillissement et la maladie.Devant. *Physiol.*,9, 44.

- Human, H., & Nicolson, S. W. (2020). Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry*, 67(14), 1486-1492.
- Imane, N. (2020). La modernisation du processus de gestion des déchets au Maroc: miracle ou mirage? *Revue Internationale des Sciences de Gestion*, 3(3).
- Iversen, L. J. L., Rovina, K., Vonnice, J. M., Matanjun, P., Erna, K. H., 'Aqilah, N. M. N., . . . Funk, A. A. (2022). The emergence of edible and food-application coatings for food packaging: a review. *Molecules*, 27(17), 5604.
- Kaci, B., Nooristani, M., Mijovic, T., & Maheu, M. (2020). Usefulness of video head impulse test results in the identification of Meniere's disease. *Frontiers in Neurology*, 11, 581527.
- Kafantaris, I., Amoutzias, G. D., & Mossialos, D. (2021). Foodomics in bee product research: a systematic literature review. *European Food Research and Technology*, 247, 309-331.
- Ketkar, S. S., Rathore, A. S., Lohidasan, S., Rao, L., Paradkar, A. R., & Mahadik, K. R. (2014). Investigation of the nutraceutical potential of monofloral Indian mustard bee pollen. *Journal of Integrative Medicine*, 12(4), 379-389.
- Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błażejczak, S., Chlebowska-Śmigiel, A., & Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 170-180.
- Kocot, J., Kiełczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., & Musik, I. (2018). Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: possible medical application. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.
- Kostić, A. Ž., Barać, M. B., Stanojević, S. P., Milojković-Opsenica, D. M., Tešić, Ž. L., Šikoparija, B., ... & Pešić, M. B. (2015). Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 301-309.
- Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Trifunović, B. D. Š., Stanojević, S. P., Lević, S., Nedić, N., ... & Pešić, M. B. (2020). Nutritional and techno-functional properties of monofloral bee-collected sunflower (*Helianthus annuus* L.) pollen. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 768-777
- Kumar, S., Mukherjee, A., & Dutta, J. (2020). Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 196-209.
- Laaroussi, H., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Bakour, M., Ousaaïd, D., El Ghouzi, A., ... & Lyoussi, B. (2023). Unveiling the techno-functional and bioactive properties of bee pollen as an added-value food ingredient. *Food Chemistry*, 405, 134958.
- Lavaut, E., Guillemin, M. L., Colin, S., Faure, A., Coudret, J., Destombe, C., & Valero, M. (2022). Pollinators of the sea: A discovery of animal-mediated fertilization in seaweed. *Science*, 377(6605), 528-530.
- Lebbah, L., & Mohamedi, D. (2022). *Pain d'abeille: compositions, propriétés, production et qualité. Recherches bibliographiques*. Université Mouloud Mammeri.

- Li, A.-N., Li, S., Zhang, Y.-J., Xu, X.-R., Chen, Y.-M., & Li, H.-B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Lopes, A. J. O., Vasconcelos, C. C., Garcia, J. B. S., Pinheiro, M. S. D., Pereira, F. A. N., Camelo, D. d. S., . . . Ribeiro, M. N. d. S. (2020). Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Pollen Extract Collected by *Scaptotrigona affinis postica*: In silico, in vitro, and in vivo Studies. *Antioxidants*, 9(2), 103.
- Luk Jun Lam Iversen 1 , Kobun Rovina 1,\* , Joseph Merillyn Vonnie 1 , Patricia Matanjun 1, Kana Husna Erna 1 , Nasir Md Nur 'Aqilah 1, Wen Xia Ling Felicia 1 and Andree Alexander Funk. The Emergence of Edible and Food-Application Coatings for Food Packaging: A Review. 2022.
- Mangaraj, S., Yadav, A., Bal, L. M., Dash, S. K., & Mahanti, N. K. (2019). Application of biodegradable polymers in food packaging industry: A comprehensive review. *Journal of Packaging Technology and Research*, 3, 77-96.
- Margaoan, R., Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D. S., Dulf, F. V., Bunea, A., Socaci, S. A., & Bobiș, O. (2014). Predominant and secondary pollen botanical origins influence the carotenoid and fatty acid profile in fresh honeybee-collected pollen. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(27), 6306-6316.
- Martinello, M., & Mutinelli, F. (2021). Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. *Antioxidants* 2021, 10, 71: s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in . . .
- Martiny, T. R., Pacheco, B. S., Pereira, C. M., Mansilla, A., Astorga-España, M. S., Dotto, G. L., . . . Rosa, G. S. (2020). A novel biodegradable film based on κ-carrageenan activated with olive leaves extract. *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3147-3156.
- Mateos-Aparicio, I., Mateos-Peinado, C., Jiménez-Escrig, A., & Rupérez, P. (2010). Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 245-250.
- Mauriello, G., De Prisco, A., Di Prisco, G., La Stora, A., & Caprio, E. (2017). Microbial characterization of bee pollen from the Vesuvius area collected by using three different traps. *Plos one*, 12(9), e0183208.
- Mekki, I. (2019). *Microbial contamination of bee pollen and impact of preservation methods*. Instituto Politecnico de Braganca (Portugal).
- Mohdaly, A. A., Mahmoud, A. A., Roby, M. H., Smetanska, I., & Ramadan, M. F. (2015). Phenolic extract from propolis and bee pollen: composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Biochemistry*, 39(5), 538-547.
- MOSBAH Asma ,(2020). DIVERSIFICATION DES PRODUITS DE LA RUCHE « POLLEN » Polycopié de l'Université de Constantine 1.
- Singh, J., Rasane, P., Kaur, S., & Nanda, V. (2022). Comparative analysis of antioxidant potential and techno-functional properties of selected corn silk varieties at different developmental stages. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4), 2685-2698.

- Muñoz-Tebar, N., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J., & Viuda-Martos, M. (2023). Chitosan Edible Films and Coatings with Added Bioactive Compounds: Antibacterial and Antioxidant Properties and Their Application to Food Products: A Review. *Polymers*, *15*(2), 396.
- Mutlu, C., & Erbas, M. (2023). Turkish bee pollen: Composition, regional discrimination and polyphenol bioaccessibility. *Food Bioscience*, 102805.
- Nathalie Gontard, Valérie Guillard, Sébastien Gaucel, Carole Guillaume. L'emballage alimentaire et l'innovation écologique dans toutes leurs dimensions.2017.
- Nieri, P., Carpi, S., Esposito, R., Costantini, M., & Zupo, V. (2023). Bioactive Molecules from Marine Diatoms and Their Value for the Nutraceutical Industry. *Nutrients*, *15*(2), 464.
- (npj Science de l'alimentation (2022) 6:18 ; <https://doi.org/10.1038/s41538022001328-8>) biodegradable packin introduction.
- Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, *63*, 233-239.
- Poças, F. (2018). Migration from packaging and food contact materials into foods. *Reference collection in food science*.
- Rebiai, A., & Lanez, T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of *Apis mellifera* bee pollen from northwest Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, *4*(2), 155-163.
- Redfearn, D. P., Trim, G. M., Skanes, A. C., Petrellis, B., Krahn, A. D., Yee, R., & Klein, G. J. (2005). Esophageal temperature monitoring during radiofrequency ablation of atrial fibrillation. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, *16*(6), 589-593.
- Rodríguez-Flores, M. S., Escuredo, O., Seijo, M. C., Rojo, S., Vilas-Boas, M., & Falcão, S. I. (2023). Phenolic Profile of Castanea Bee Pollen from the Northwest of the Iberian Peninsula. *Separations*, *10*(4), 270.
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabała-Dzik, A., Kubina, R., . . . Buszman, E. (2015). Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules*, *20*(12), 21732-21749.
- ŞAHİN, H., & KEMAL, M.(2019). Antioxidant Capacity of a Bee Pollen Sample Obtained from Giresun, Turkey. *Journal of Apitherapy and Nature*, *2*(2), 46-51.
- Arab, Y., SAHIN, B., CEYLAN, O., Zellagui, A., OLMEZ, O. T., KUCUKAYDIN, S., ... & GHERRAF, N. (2022). Assessment of in vitro activities and chemical profiling of *Senecio hoggariensis* growing in Algerian Sahara. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *23*(7).

- Saral, Ö., Kilicarslan, M., ŞAHİN, H., Yildiz, O., & Dincer, B. (2019). Evaluation of antioxidant activity of bee products of different bee races in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 43(4), 441-447.
- Schulte, F., Mäder, J., Kroh, L. W., Panne, U., & Kneipp, J. (2009). Characterization of pollen carotenoids with in situ and high-performance thin-layer chromatography supported resonant Raman spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 81(20), 8426-8433.
- Sekhon-Loodu, S., & Rupasinghe, H. V. (2019). Evaluation of antioxidant, antidiabetic and antiobesity potential of selected traditional medicinal plants. *Frontiers in nutrition*, 6, 53.
- Serra Bonvehí, J., Soliva Torrentó, M., & Centelles Lorente, E. (2001). Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(4), 1848-1853.
- Singh, J., Rasane, P., Kaur, S., & Nanda, V. (2022). Comparative analysis of antioxidant potential and techno-functional properties of selected corn silk varieties at different developmental stages. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4), 2685-2698.
- Soares de Arruda, V. A., Viera dos Santos, A., Figueiredo Sampaio, D., da Silva Araujo, E., de Castro Peixoto, A. L., Estevinho, L. M., & de Almeida-Muradian, L. B. (2021). Brazilian bee pollen: phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Journal of Apicultural Research*, 60(5), 775-783.
- Thakur, M., & Nanda, V. (2020). Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 82-106.
- Thakur, M., & Nanda, V. (2019). Process optimization of polyphenol-rich milk powder using bee pollen based on physicochemical and functional properties. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6), e13148.
- Thibault M., (2017). Le pollen apicole : ses propriétés et ses utilisations thérapeutiques. (thèse de doctorat, université de lorraine).
- Tsuchiya, H. (2015). Membrane interactions of phytochemicals as their molecular mechanism applicable to the discovery of drug leads from plants. *Molecules*, 20(10), 18923-18966.
- Velásquez, P., Rodriguez, K., Retamal, M., Giordano Villatoro, A., Valenzuela Roediger, L. M., & Montenegro Rizzardini, G. (2017). Relation between composition, antioxidant and antibacterial activities and botanical origin of multi-floral bee pollen.
- Vergun, O., Grygorieva, O., Lidiková, J., Hauptvogel, P., & Brindza, J. (2023). Nutritional composition of *Phacelia tanacetifolia* Benth. bee pollen and inflorescences. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, 7(1).
- Verstraeten, S. V., Fraga, C. G., & Oteiza, P. I. (2015). Interactions of flavan-3-ols and procyanidins with membranes: mechanisms and the physiological relevance. *Food & function*, 6(1), 32-40.

- Wang, Q., Chen, W., Zhu, W., McClements, D. J., Liu, X., & Liu, F. (2022). A review of multilayer and composite films and coatings for active biodegradable packaging. *npj Science of Food*, 6(1), 18.
- Wrolstad, R. (2004). Anthocyanin pigments—Bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science*, 69(5), C419-C425.
- Xu, X., Dong, J., Mu, X., & Sun, L. (2011). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil, carotenoids, squalene and sterols from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) bee pollen. *Food and Bioproducts Processing*, 89(1), 47-52.
- Yilmaz, G., Eruygur, N., Bona, G. E., Bona, M., Akdeniz, M., Yilmaz, M. A., & Ertas, A. (2023). Phytochemical analysis, antioxidant, and enzyme inhibition activity of five *Salvia taxa* from Turkey. *South African Journal of Botany*, 152, 212-221.
- Younsi, D., & Lazizi, N. (2016). *Etude des caractéristiques physico-chimiques du pollen d'abeille de la région de Naciria (W. Boumerdes)* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- ZHANG, H., Mengqiong, C., Ruiquan, Q., Fan, D., Hao, F., & JIANG, R. (2023). Agronomic performances of biodegradable and non-biodegradable plastic film mulching on a maize cropping system in the semi-arid Loess Plateau. *Pedosphere*.
- Anonyme 1. Conseil de la transformation agroalimentaire et des produits de consommation.  
Guide de l'emballage alimentaire



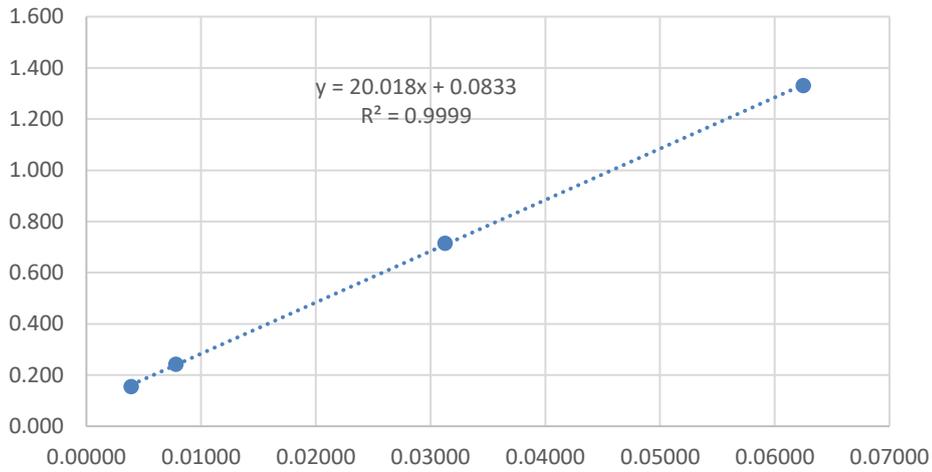




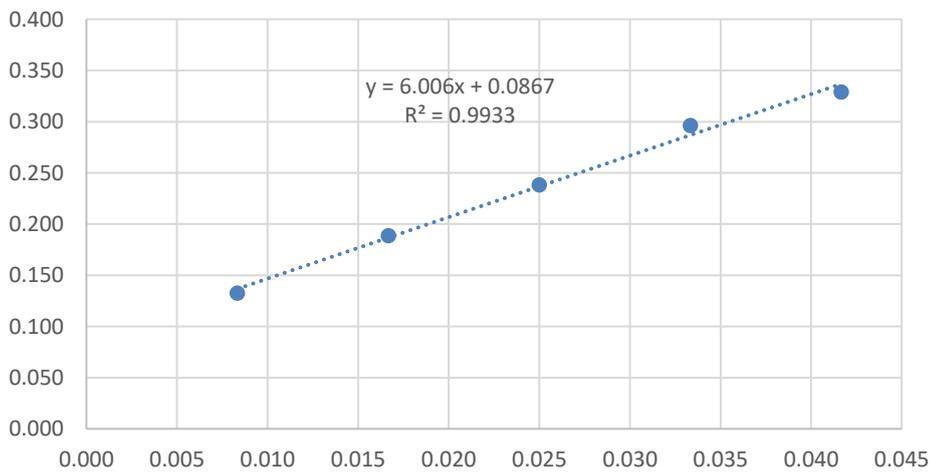




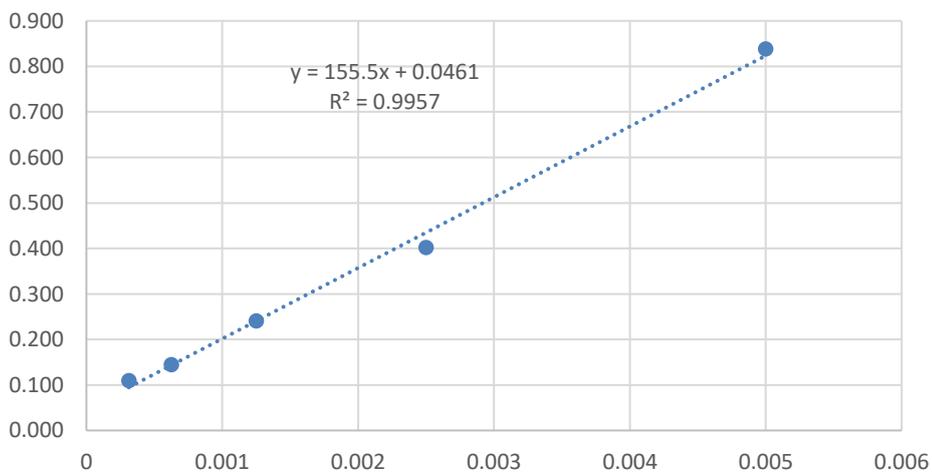
### Courbe d'étalonnage des Composés phénoliques



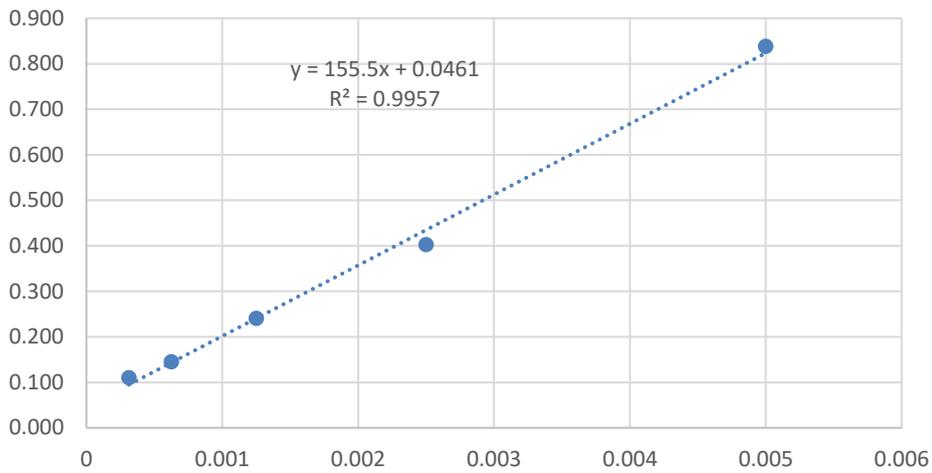
### Courbe d'étalonnage des flavonoides



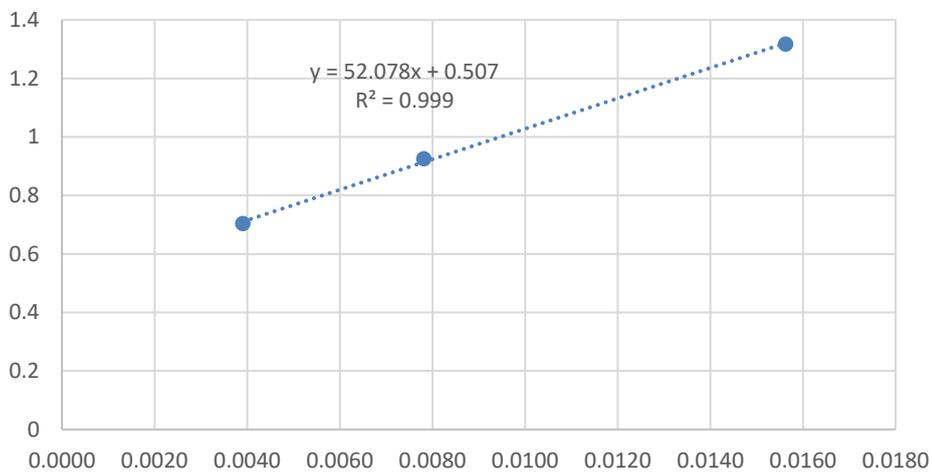
### Courbe d'étalonnage des flavonols



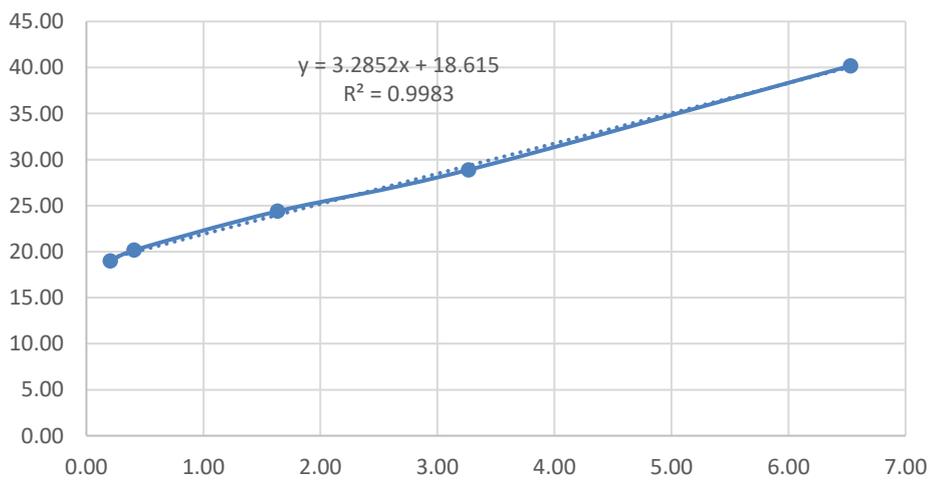
### Courbe d'étalonnage des flavonols



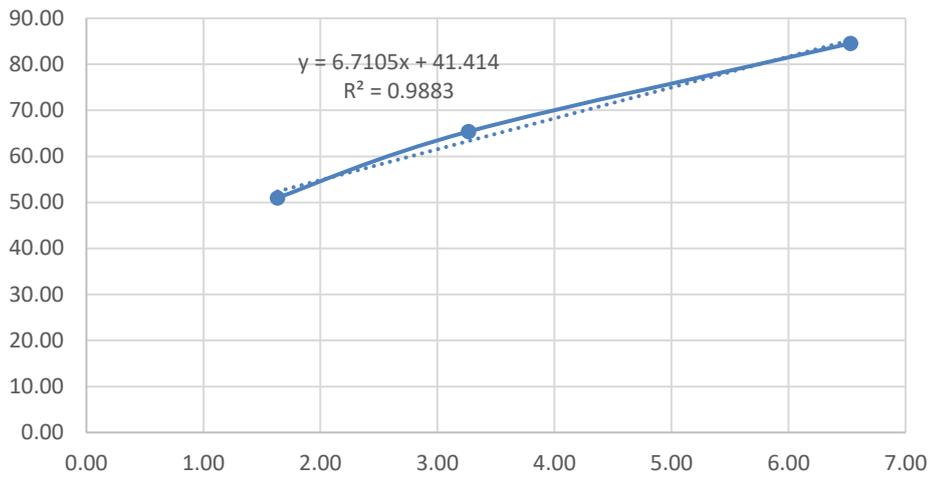
### Courbe d'étalonnage des caroténoïdes



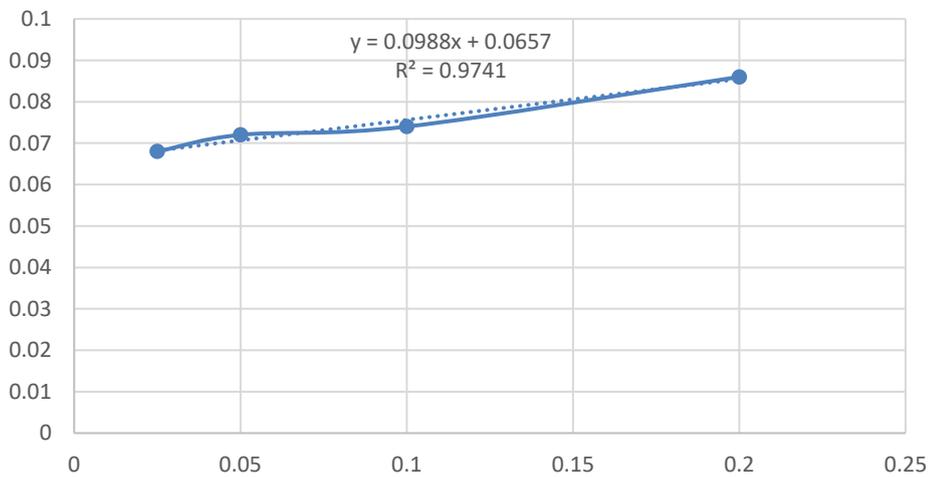
### DPPH (IC50)



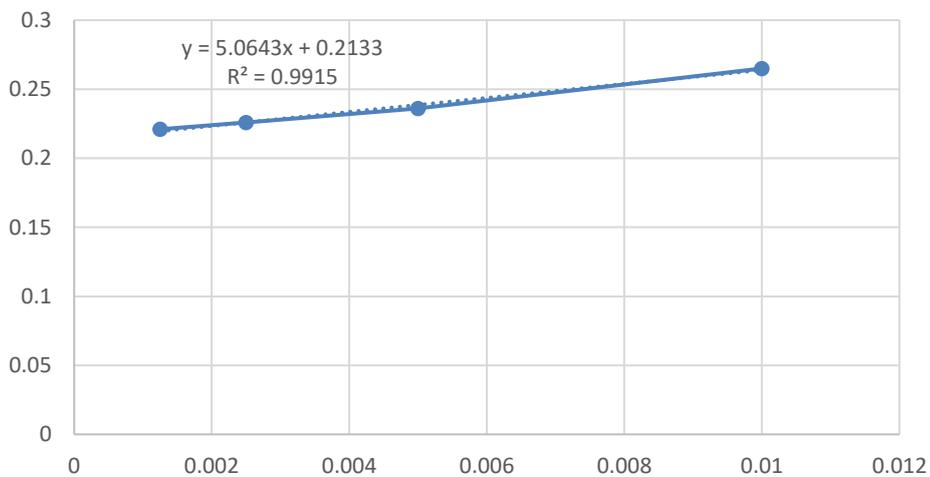
### ABTS (IC50)



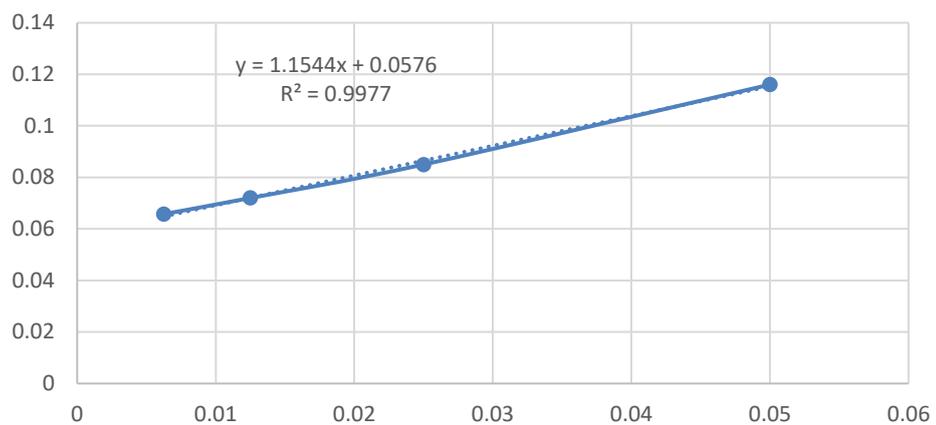
### Courbe d'étalonnage test phosphomolybdate



### Courbe d'étalonnage pouvoir réducteur



### Courbe d'étalonnage effet scavengeur du radical hydroxyle (IC50)



## RÉSUMÉ

L'innovation dans la conception d'un emballage antimicrobien, pour la conservation de la viande bovine, est le principal objectif de cette étude. Une optimisation de la formulation d'un film actif, à différentes concentrations de l'extrait de pollen d'abeille, a été réalisée en utilisant le plan d'expériences de Box-Behnken. D'après les résultats obtenus on constate que le nouveau bio-emballage actif a prolongé la durée de conservation de la viande. Les propriétés techno-fonctionnelles (test de gonflement, capacité de rétention d'eau et capacité de rétention d'huile) du pollen d'abeille ont été évaluées. Ainsi que sa teneur en composés phytochimiques (composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, proanthocyanidines et caroténoïdes), ses activités antioxydante (ABTS, DPPH, pouvoir réducteur, test de phosphomolybdate et le test de l'effet scavenger du radical hydroxyle) et son activité antimicrobienne. Cette nouvelle recherche offre à l'industrie de l'emballage une source alternative pour produire des films d'emballage alimentaire biodégradables qui sont plus rentables tout en réduisant les problèmes environnementaux.

**Mots clés :** pollen, emballage biodégradable actif, viande, oxydation, analyse antimicrobienne.

## ABSTRACT

Innovation in the design of antimicrobial packaging for the preservation of beef is the main objective of this study. An optimization of the formulation of an active film, at different concentrations of bee pollen extract, was carried out using the Box-Behnken design of experiments. According to the results obtained, it can be seen that the new active bio-packaging extended the shelf life of the meat. The techno-functional properties (swelling test, water retention capacity and oil retention capacity) of bee pollen were evaluated. As well as its content of phyto-chemical compounds (phenolic compounds, flavonoids, flavonols, proanthocyanidins and carotenoids), its antioxidant activities (ABTS, DPPH, reducing power, phosphomolybdate test and the test for the scavenger effect of the hydroxyl radical) and its antimicrobial activity. This new research offers the packaging industry an alternative source to produce biodegradable food packaging films that are more cost effective while reducing environmental issues.

**Keywords :** pollen, active biodegradable packaging, meat, oxidation, antimicrobial analysis.

## ملخص

الهدف الرئيس لهذه الدراسة هو الابتكار في تصميم عبوات مضادات الميكروبات للحفاظ على لحوم البقر. تم إجراء Box-Behnken تجارب تحسين في صياغة فيلم نشط، باستخدام خطة اختبار مختلفة من مستخلص حبوب لقاح النحل، باستخدام تصميم التجارب. وقد أظهرت النتائج أن التصميم الجديد قد تم الحصول عليه، يمكن ملاحظة أن الغليف الحيوي النشط الجديد يطيل العمر الافتراضي للحوم. تم تقييم الخصائص الوظيفية (اختبار الانتفاخ، والقدرة على الاحتفاظ بالماء، والقدرة على الاحتفاظ بالزيت) من المركبات الكيميائية النشطة (المركبات الفينولية، DPPH، ABTS، الفلافونويد، والفانولين، الارتوانوسيانيدين والكاروتينات)، وأنشطتها المضادة للأكسدة، اختبار الفوسفوموليبيدات واختبار التأثيرات الكاسحة لجذر الهيدروكسيل (نشاط مضادات الميكروبات). يوفر هذا البحث الجديد لصناعة الغليف مصدرًا بديلًا لإنتاج أغذية قابلة للتحلل الحيوي تكون أكثر فعالية من حيث التكلفة مع تقليل المشكلات البيئية.

**الكلمات المفتاحية :** حبوب اللقاح، العجوات النشطة القابلة للتحلل، اللحوم، الأكسدة، تحلل مضادات الميكروبات