

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité Biochimie fondamentale



Réf :

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

MASTER

Thème

Encapsulation des extraits de pollen : élaboration, évaluation de stabilité, de la libération prolongée et du potentiel bioactif.

Présenté par : Mlle. **BENAZOUZ Fahima**

Mlle **BENABDALLAH Thilelli**

Soutenu le :03/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme. AKSAS A.	MCB	Présidente
Mme. SEBAIHI S.	MCB	Examinatrice
M. ZAIDI H.	MCB	Encadrant
M. OTMANI A.	MCB	Co-Encadrant

Année universitaire : 2024 / 2025

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

En premier lieu, et avant tout, nous tenons à remercier le Bon Dieu qui nous a accordé la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail, fruit de plusieurs années d'efforts et d'apprentissage.

*Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrant, **Dr. ZAIDI H**, dont la patience inébranlable, la disponibilité constante et les conseils avisés ont été essentiels tout au long de la réalisation de ce projet. Sa bienveillance, son écoute attentive et son accompagnement rigoureux ont grandement facilité notre travail et enrichi notre réflexion. Son soutien moral et scientifique a constitué un pilier fondamental dans la réussite de ce mémoire, et nous lui en sommes profondément reconnaissants.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à notre Co-encadrant, **Dr. OTMANI A**, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité, et surtout pour son aide technique et scientifique, notamment durant les phases expérimentales de ce travail. Son expertise, sa pédagogie et son implication ont grandement contribué à la qualité de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos sincères considérations et remerciements les plus chaleureux aux membres du jury, **Dr. AKSAS A. et Dr. SEBAIHI S.** pour avoir acceptée d'évaluer notre travail.*

Nous n'oublions pas de remercier l'ensemble des enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour leur engagement et leur transmission du savoir tout au long de notre parcours universitaire.

Enfin, à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, nous adressons notre reconnaissance la plus sincère.



DEDICACE

Dédicaces

C'est avec une immense joie, un cœur débordant de reconnaissance et des émotions sincères que je dédie ce travail à mes très chers parents, mes piliers, mes héros du quotidien.

Votre amour inconditionnel, votre patience infinie et votre soutien sans faille ont été la lumière qui a guidé chacun de mes pas. Sans vous, rien de tout cela n'aurait été possible.

À ma chère sœur Massicilia, dont la douceur et la force m'inspirent chaque jour; ainsi qu'à son mari Cherif et leur fille, ma princesse Eline. À mon frère Samir, à sa femme, et à leurs enfants Aylane et Malek. À mes frères Kouceila, Fahem et Aghilas.

À mon oncle Saïd, à sa femme et à leurs filles Alicia et Wissam. À mes tantes et à toute ma famille, pour leur amour et leur soutien constants.

À mes amis de la vie.

À toutes les personnes qui m'ont encouragée ou aidée tout au long de mes études,

À ma collègue Thilelli.

À la meilleure promotion de biochimie fondamentale 2024/2025, Merci pour chaque éclat de rire partagé, chaque moment de solidarité, chaque instant de complicité. Votre énergie, votre bienveillance et votre passion ont illuminé cette année académique et laissé une empreinte précieuse dans mon cœur.



FAHIMA

Dédicaces

Je dédie humblement ce travail :

*À **Dieu Tout-Puissant**, source de toute force, patience et inspiration, qui a éclairé mon chemin et m'a accordé la persévérance nécessaire pour surmonter chaque épreuve et atteindre cet accomplissement.*

*À **moi-même**, pour la résilience, le travail acharné et les sacrifices consentis, et pour avoir cru en mes capacités même lorsque le doute s'installait.*

*À mes très chers **parents**, dont l'amour inconditionnel, les prières incessantes et le soutien indéfectible ont été mon plus grand pilier. Votre foi en moi a été ma plus grande motivation.*

*À mes merveilleux **frères** Massinissa, Kouceila et Rayane, pour votre amour, vos encouragements et la joie que vous apportez à ma vie.*

*À mes **amis**, pour leur présence précieuse, leur soutien moral, leurs encouragements et les moments partagés qui ont allégé les périodes difficiles.*

*À mon **binôme** Fahima.*



THILELL

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....01

Chapitre I : Généralités sur le pollen

1. 1. Définition du pollen	02
1. 2. Structure du grain de pollen	02
1. 2. 1. Exine	03
1. 2. 2. Intine	04
1. 2. 3. Noyaux	04
A. Noyau végétatif	04
B. Noyau reproducteur.....	04
1. 3. Composition chimique de pollen d'abeille	04
1. 3. 1. Glucides.....	05
1. 3. 2. Protéines et acides aminés.....	05
1. 3. 3. Lipides et acides gras.....	05
1. 3. 4. Composés phénoliques.....	05
A. Acides phénoliques	05
B. Flavonoïdes	06
1. 3. 5. Autres composés	06
A. Minéraux.....	06
B. Vitamines.....	06
C. Enzymes	06
1. 4. Effets thérapeutiques	07
1. 4. 1 Effet antioxydant	07
1. 4. 2. Effet sur le traitement de la prostate chronique.....	07
1. 4. 3. Effets antidiabétiques	08

Chapitre II : Encapsulation

2.1. Définition.....	09
2.2. Types de microcapsules	09
2.2.1. Microparticules	09
A. Microsphères	09
B. Microcapsules.....	10
2.2.2. Nanoparticules	10
A. Nanosphères	10
B. Nanocapsules	10
2.3. Différentes techniques d'encapsulation	10
2.3.1. Procédés physicochimiques.....	11
A. Gélification ionique	11
2.3.2. Procédés mécaniques	11
A. Gélification ou congélation de gouttes (Prilling).....	11

Chapitre III : Matériel et méthodes

3. 1. Echantillons.....	12
3. 2. Protocole d'extraction.....	13
3. 3. Dosage des antioxydants.....	13
3. 3.1. Dosage des composés phénoliques totaux.....	13
3. 3.2. Dosage des flavonoïdes.....	13
3. 4. Activités antioxydantes.....	14
3. 4.1. Activité antiradicalaire DPPH.....	14
3. 4.2. Activité antiradicalaire ABTS.....	14
3. 4.3. Pouvoir réducteur.....	15
3. 5. Encapsulation des extraits phénoliques de pollen d'abeille.....	15
3. 5. 1. Préparation de la solution gélatine et alginate.....	15
3. 5. 2. Préparation des capsules.....	16
3.6. Caractérisation des capsules.....	16

3.6.1. Observation microscopie.....	16
3.6.2. Détermination de l'efficacité d'encapsulation.....	16
3.6.3. Indice de gonflement.....	17
3.6.4. Cinétique de libération des composés phénoliques.....	17
3. 7. Analyses statistiques.....	18

Chapitre IV : Résultats et discussion

4. 1. Teneurs en antioxydants	19
4. 1. 1. Teneurs en polyphénols totaux.....	19
4. 1. 2. Teneurs en flavonoïdes.....	20
4. 2. Activités antioxydantes.....	21
4. 2. 1. Activité antiradicalaire DPPH	21
4. 2. 2. Activité antiradicalaire ABTS.....	22
4. 2. 3. Pouvoir réducteur	23
4. 3. Encapsulation	24
4. 3. 1. Morphologie	24
A. Taille des capsules	24
B. Etude microscopique	26
4. 3. 2. Efficacité d'encapsulation.....	27
4. 3. 3. Indice de gonflement.....	28
4. 3. 4. Profils de libération.....	29
Conclusion	34
Références bibliographiques.....	35
Annexes	

Liste des figures

Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
1	Structure de grain de pollen.	3
2	Photographie des échantillons du pollen(originale).	12
3	Étapes de réalisation de l'encapsulation.	16
4	Teneurs en composés phénoliques totaux des échantillons de pollen.	19
5	Teneurs en flavonoïdes des échantillons de pollen.	20
6	Résultats des activée antiradicalaires DPPH des échantillons de pollen.	21
7	Résultats des activée antiradicalaires ABTS des échantillons de pollen.	22
8	Résultats de pouvoir réducteur des échantillons de pollen.	23
9	Capsules sous le microscope optique.	26
10	Résultats des efficacités d'encapsulation.	27
11	Résultats de poids des capsules.	28
12	Courbe de libération des composés phénoliques en milieu acide à partir des capsules élaborées avec les extraits de Souk El Ténine, Kherrata, Tighremt, Adekar et Aokas.	30
13	Courbe de libération des composés phénoliques en milieu neutre à partir des capsules élaborées avec l'extraits de Tighremt.	31
14	Courbe de libération des composés phénoliques en milieu neutre à partir des capsules élaborées avec les extraits de Souk El Ténine, Kherrata, Adekar et Aokas.	32

Liste tableaux

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
I	Régions de collecte des échantillons de pollen.	12
II	Taille des capsules élaborées	24
III	Paramètres de modèles de superposition linéaire (LSM) pour la libération des composés phénoliques des capsules.	33

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

Abs : Absorbance

ADN : Acide désoxyribonucléique

AG : Acide Gallique

AGEs: Advanced glycation end-products

PKB(AKT): Protein kinase B

ALG : Alginate

ANOVA : ANalysis Of VAriance

C : Catéchine

COX : Cyclooxygénase

CP : Composés phénoliques

CPT_e: teneur en composés phénoliques totaux encapsulés

CPT_i : teneur initiale en composés phénoliques totaux de la solution utilisée lors du processus d'encapsulation

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EE : Efficacité d'encapsulation

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

EAG/g : équivalent d'acide gallique par gramme

EC/g : équivalent catéchine par gramme

G : Grossissement

GABA : acide gamma-aminobutyrique

GE : Gélatine

GPx : Glutathion peroxydase

IL-1 β : Interleukin-1 beta

IL-6 : Interleukin-6

LOX : Lipoxygénase

LSM: Linear Superposition Method

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase

NF- κ B: Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

PC : Phenolic compounds

PI3K : Phosphatidylinositol 3-kinase

SOD : Superoxydase

TCA : Trichloroacetic Acid

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

Introduction

Le pollen est un complément alimentaire naturel issu des étamines des fleurs, riche en nutriments et en composés phénoliques, en vitamines et en enzymes. Il est de plus en plus valorisé pour ses propriétés biologiques, notamment antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (**Komosinska-Vassev et al., 2015**). Cependant, sa composition chimique est particulièrement sensible aux conditions environnementales, particulièrement à l'oxydation, à la lumière et à l'humidité, ce qui le rendant un élément assez sensible, mettant en péril sa stabilité et son efficacité en tant qu'ingrédient fonctionnel ou thérapeutique (**Guine, 2015**).

L'encapsulation apparaît comme une stratégie technologique prometteuse qui consiste à abriter les composés bioactifs dans une matrice protectrice dans le but d'améliorer leur stabilité et contrôler leur libération dans le temps et de renforcer leur efficacité biologique (**Gharsallaoui et al., 2007**). Cette technique est largement utilisée dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique et donne de nombreuses possibilités d'application pour le pollen, notamment sous forme de microcapsules ou de films polymériques (**Anal et al., 2007; Machado et al., 2022**).

Ce travail vise à déterminer les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes de pollen d'abeille et à évaluer sa capacité antioxydante. Cette étude vise également à encapsuler des extraits phénoliques de pollen à l'aide d'un mélange de polymères (gélatine et alginate) en mettant l'accent sur la préparation de systèmes d'encapsulation, l'évaluation de leur stabilité et la caractérisation de la libération prolongée des composés bioactifs. Cette démarche vise à étudier le potentiel de cette encapsulation à protéger les extraits phénoliques du pollen d'abeille contre l'acidité gastrique lorsqu'ils sont utilisés comme compléments alimentaires.

Cette étude comporte deux parties principales :

- ✓ La première partie comprend la revue bibliographique qui présente la composition chimique et les propriétés biologiques du pollen, et les méthodes d'encapsulation couramment utilisées.
- ✓ La deuxième partie renferme la partie expérimentale qui met en évidence la teneur en composée phénolique, l'effet antioxydant du pollen et la méthode utilisée pour encapsuler les extraits du pollen, les techniques analytiques utilisées pour étudier la stabilité des capsules ainsi que les résultats obtenus et leur interprétation.

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le pollen

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le pollen

1. 1. Définition de pollen

Le mot "pollen" vient du grec.... « palé » et qui signifie "farine" ou "poussière pollinique". Cependant, le terme "palynologie", issu de la même racine, désigne l'étude scientifique des pollens (**Kiared et al., 2017**).

Le pollen est une fine poussière constituée de grains microscopiques produits par les anthères des fleurs chez les angiospermes et par les cônes mâles chez les gymnospermes. Il joue un rôle essentiel en tant qu'agent mâle de la fécondation. Sa couleur varie en fonction de la plante d'origine, présentant une large palette de couleurs allant du blanchâtre au rose, du jaune au vert et du rouge au marron foncé (**Ravazzi, 2002**).

Le pollen d'abeille est un mélange naturel de pollen de nectar de fleurs et de sécrétions salivaires des abeilles. C'est l'un des produits de la ruche les plus riches en protéines, sucres, polyphénols, acides gras, minéraux et vitamines (**Algethami et al., 2022**). Les abeilles ouvrières pollinisent les fleurs et collectent de grandes quantités de pollen. Après la collecte, le pollen est humidifié avec des sécrétions salivaires des butineuses et du nectar des fleurs pour être rassemblés en granules de 1,4 à 4 mm (**Qiao et al., 2023**).

1. 2. Structure du grain de pollen

Le pollen est un composant naturel du miel et possède une forme, une taille et une ornementation spécifique qui dépend des plantes butinées par les abeilles (**Pospiech et al., 2021**). Le pollen est également utilisé pour déterminer l'origine géographique et botanique du miel, ou pour identifier le type du miel, qu'il soit monofloral ou polyfloral (**Shubharani et al., 2013**).

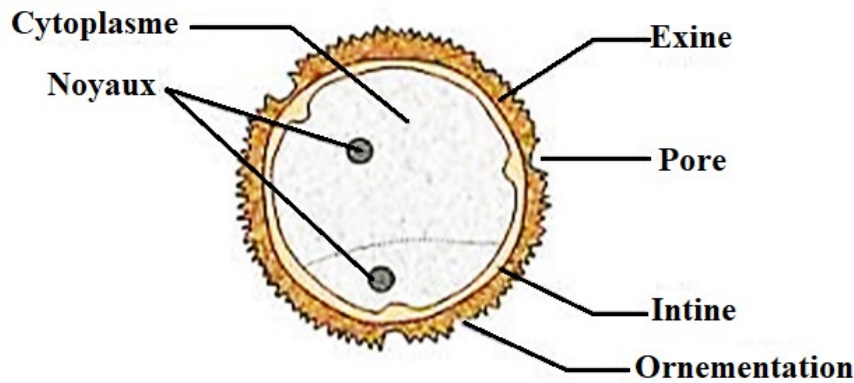


Figure 1 : Structure du grain de pollen (<https://tse1.mm>).

1. 2. 1. Exine

L'exine représente la paroi externe du grain de pollen qui est constituée de sporopollénine, une substance organique très résistante composée essentiellement des caroténoïdes, des composés phénoliques et des phénylpropanoïdes. La sporopollénine protège les parties internes de pollen, en particulier des rayonnements ultra-violets (**Blackmore et al., 2007**). L'exine est constituée par :

A. Tectum

Le tectum est la partie visible du grain de pollen, varie selon les espèces végétales, et joue un rôle clé dans la reconnaissance entre le grain de pollen et le stigmate, précurseur essentiel à la fécondation (**Heslop-Harrison, 1971**).

B. Columelles

Les columelles sont de petites colonnes verticales situées sous le tectum qui servent de piliers soutenant la surface extérieure. Leur longueur et leur densité peuvent varier selon les espèces végétales. Les columelles confèrent à l'exine sa structure tridimensionnelle distinctive (**Rowley & Skvarla, 1975**).

C. Foot layer

Le foot layer est la couche interne de l'exine et est généralement dense et continue et parfois discontinue selon les espèces végétales. Cette couche forme la limite entre l'exine et l'intine, joue un rôle de soutien et est importante pour la forme et la structure du grain de pollen (**Erdtman, 1952**).

1. 2. 2. Intine

L'intine est la paroi interne du grain de pollen qui est composée principalement de cellulose et de pectine et cette paroi est plus souple et plus mince que l'exine. L'intine joue un rôle clé dans la germination et la croissance du tube pollinique (**Derksen et al., 1999**).

1. 2. 3. Noyaux

Le grain de pollen lorsque est mature contient deux noyaux distincts issus de la mitose d'une cellule haploïde initiale : le noyau végétatif et le noyau reproducteur, qui ont des fonctions bien différenciées dans le processus de fécondation (**Cheung & Wu, 2008**).

A. Noyau végétatif

Le noyau végétatif est responsable de la formation du tube pollinique, une structure tubulaire qui se développe à partir du grain de pollen après sa germination sur le stigmate. Ce tube pénètre dans les tissus du style jusqu'à atteindre l'ovule. Ce noyau ne participe pas directement à la fécondation, mais permet le transport des gamètes mâles vers le sac embryonnaire. Le noyau végétatif est également impliqué dans la dégradation enzymatique des tissus du pistil pour faciliter la progression du tube (**Cheung & Wu, 2008**).

B. Noyau reproducteur

Le noyau reproducteur subit une mitose asymétrique dans le tube pollinique pour former deux gamètes mâles haploïdes. Ces gamètes sont ensuite délivrés à l'ovule via le tube pollinique (**Lord & russell, 2002**). Chez certaines espèces un gamète mâle fusionne avec l'oosphère pour former le zygote (2n). Cependant, l'autre gamète fusionne avec les deux noyaux polaires pour former le tissu triploïde nourricier appelé albumen (3n), essentiel au développement embryonnaire (**Heslop-Harrison et al., 2023**).

1. 3. Composition chimique du pollen d'abeille

Plus de 250 composés bioactifs ont été identifiés dans le pollen d'abeille, qui contient principalement des glucides, des protéines et des lipides, ainsi que des vitamines, des minéraux, des caroténoïdes, des phénols et des oligo-éléments (**Boulfous et al., 2025**).

1. 3. 1. Glucides

Le pollen est une source naturelle et importante de glucides. Ce produit de la ruche est riche en sucres simples tels que le glucose et le fructose (environ 90 %) et contient également d'autres sucres présents en petites quantités comme le saccharose, le maltose et mélizitose (Qian et al., 2008).

La teneur moyenne en sucre des grains de pollen varie de 57 à 81 g/100 g dont le fructose, le glucose et le saccharose représentant 30 à 50 g /100 g de pollen sec. La quantité de sucres dans le pollen varie en fonction de l'origine botanique et de la région de récolte (Sattler et al., 2015).

1. 3. 2. Protéines et acides aminés

La valeur nutritionnelle du pollen d'abeille est due à sa richesse en acides aminés essentiels et non essentiels. Plusieurs recherches ont montré la présence entre 19 et 42 acides aminés (protéinogènes et non protéinogènes) dans différents types de pollen (Bayram et al., 2021). La proline est l'acide aminé le plus abondant avec environ 22,88 mg/g. D'autres acides aminés importants tels que l'acide glutamique, l'asparagine, l'acide aspartique, la lysine, la leucine et le GABA ont également été détectés en quantité significative (Komosinska-Vassev et al., 2015).

1. 3. 3. Lipides et acides gras

La teneur en matières grasses des grains de pollen varie selon les espèces végétales, atteignant jusqu'à 20 % (Campos et al., 2008). Le pollen contient 13 types d'acides gras, saturés et insaturés. Les acides gras les plus représentatifs sont l'acide linoléique (oméga 6), essentiel à la santé des abeilles. Il contient également de l'acide palmitique, de l'acide oléique (oméga 9), de l'acide myristique, de l'acide caproïque, de l'acide laurique et de l'acide stéarique (Liolios et al., 2015).

1. 3. 4. Composés phénoliques

A. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont une sous-classe importante de composés phénoliques, qui jouent un rôle clé dans les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes du pollen. Parmi les acides phénoliques présents dans ce dernier : l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique, l'acide vanillique et l'acide chlorogénique (Bedjih et al., 2025).

La concentration en ces composés varie selon l'origine botanique et géographique et les conditions de récolte de pollen (**Silva et al., 2006**).

B. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques largement présents dans le pollen et leur structure commune contient trois cycles (deux cycles benzéniques et un cycle hétérocyclique). Ces composés sont responsables de la couleur et du goût amers des grains de pollen (**Campos et al., 2008**). Plusieurs flavonoïdes ont été identifiés dans les extraits aqueux de pollen, notamment la quercétine, le kaempférol, l'isorhamnétine, la myricétine, la lutéoline et la catéchine, souvent sous la forme de flavonols 3-glycosides (**Markham & Campos, 1996 ; Kolayli et al., 2024**).

1. 3. 5. Autres composés

A. Minéraux

Le pollen contient de nombreux minéraux essentiels tels que le potassium (K), le phosphore (P), le calcium (Ca), le magnésium (Mg), le zinc (Zn), le fer (Fe) et le sélénium (Se) (**Ćirić et al., 2023**). Les minéraux présents dans le pollen ont la capacité à soutenir les fonctions métaboliques, enzymatiques et immunitaires du corps humain (**Komosinska-Vassev et al., 2015**).

B. Vitamines

Le pollen est une source naturelle riche en vitamines hydrosolubles (vitamine C) et liposolubles (vitamine E). Parmi ces vitamines figurent les vitamines du groupe B (B1, B2, B6, B9 et B12), qui sont essentielles au métabolisme énergétique, au fonctionnement du système nerveux et à la formation des globules rouges. La vitamine C renforce les défenses immunitaires et agit comme antioxydant (**Komosinska-Vassev et al., 2015**).

C. Enzymes

Plusieurs enzymes sont présentes dans le pollen tels que l'amylase qui facilite la digestion des glucides et la phosphatase qui intervient dans la libération des groupes phosphate nécessaires à l'activation de certaines protéines (**Sawicki et al., 2022**). La glucose oxydase produit du peroxyde d'hydrogène, aux propriétés antimicrobiennes, et la catalase neutralise les radicaux libres. Toute cette activité enzymatique confère au pollen ses fonctions de défense biologique et de préservation cellulaire (**Taha, 2015**).

1. 4. Effets thérapeutiques

Le pollen est un produit alimentaire connu pour ses composés bioactifs et ses vertus thérapeutiques. Ce produit de la ruche est utilisé comme complément alimentaire et en médecine traditionnelle, notamment dans le traitement des maladies associées au stress oxydatif, à l'inflammation et aux troubles métaboliques (Aylanc *et al.*, 2023).

1. 4. 1 Effet antioxydant

Le pollen d'abeille présente des activités antioxydantes élevées qui sont corrélées à ses teneurs en composés phénoliques, qui sont connus pour leurs propriétés antioxydantes. Ces composés ont la capacité d'inactiver les espèces réactives de l'oxygène (ERO), les électrophiles et d'éliminer les radicaux libres (Tutun *et al.*, 2021).

D'une manière générale, les échantillons du pollen les plus riches en antioxydants affichent les teneurs les plus élevées en polyphénols confirmant que ces composés contribuent de manière significative à la capacité antioxydante totale de pollen (Rodríguez-Pólit *et al.*, 2023). Cela rejoint les conclusions de plusieurs études qui ont montré que la présence de polyphénols dans le pollen est un bon indicateur de son potentiel antioxydant et thérapeutique. Il est toutefois important de noter que d'autres composés non phénoliques pourraient aussi jouer un rôle dans l'activité antioxydante globale de pollen, notamment des minéraux, des acides aminés, des peptides, des protéines, des acides organiques et des enzymes, mais à des concentrations plus faibles que les composés phénoliques (Martinello, 2021 ; Tutun *et al.*, 2021). Ainsi, l'effet antioxydant du pollen d'abeille est principalement dû à sa richesse en composés phénoliques, et varie selon l'origine botanique et géographique du pollen, influençant ainsi son potentiel bénéfique pour la santé (Hemmami *et al.*, 2020).

1. 4. 2. Effet sur le traitement de la prostate chronique

La prostatite bactérienne chronique touche un large éventail de personnes, provoquant des douleurs, des problèmes des voies urinaires et des problèmes psychologiques dans leur vie sexuelle. Les composés bioactifs de pollen exercent une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de l'activité de la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase (LOX) qui se manifestent par la production de médiateurs lipidiques pro-inflammatoires (prostaglandines et leucotriènes). Cela réduit la formation de molécules responsables de la douleur, du gonflement et de l'infiltration inflammatoire dans le tissu prostatique. Ainsi, cela réduit l'inflammation chronique au niveau du tissu prostatique (Komosinska-Vassev *et al.*, 2015).

En parallèle, les composés bioactifs de pollen modulent la voie de signalisation NF- κ B, limitant l'expression des cytokines pro-inflammatoires comme TNF- α , IL-1 β et IL-6. Le pollen a une double action enzymatique et immunomodulatrice qui permet de freiner l'inflammation induite par l'infection bactérienne, ce qui favorisant la régénération tissulaire et le retour à un fonctionnement prostatique normal (Qiao et al., 2023).

1. 4. 3. Effets antidiabétiques

Le pollen est un régulateur important des glucides et joue un rôle protecteur dans le stress oxydatif contre la destruction des cellules β -pancréatiques et la résistance à l'insuline (Daudu, 2019).

Les vitamines E et C et les flavonoïdes contenus dans le pollen neutralisent les radicaux libres en protégeant la membrane cellulaire et l'ADN et en améliorant l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD) et de la glutathion peroxydase (GPx). Certains flavonoïdes tels que la quercétine, le kaempférol et l'apigénine favorisent la régulation des cellules β productrices d'insuline, préviennent l'apoptose, activent la voie de signalisation intracellulaire PI3K/AKT et MAPK responsables de la survie et de la prolifération cellulaires, et stimulent les gènes responsables de la formation des cellules β (Yang, 2019).

De plus, le pollen augmente également la sensibilité à l'insuline et réduit la formation de glycolisation avancée (AGEs) et qui ralentit l'absorption du sucre dans l'intestin et réduit la glycémie après les repas (Setyawan, 2024).

Chapitre II : Encapsulation

La technologie d'encapsulation existe depuis des décennies. Elle date des années 1950 lorsqu'elle a été utilisée pour la première fois par Green et ses collaborateurs. Ils ont encapsulé du colorant par la technique de coacervation de la gélatine et de la gomme arabique pour la production du papier sans carbone (Jain et al., 2021).

Les techniques d'encapsulation ont été largement utilisées dans diverses industries telles que les domaines pharmaceutiques, alimentaires, cosmétiques et parfumeries en raison de ces avantages. Notamment la protection contre l'humidité ou l'oxygène, la prévention des réactions chimiques entre deux espèces actives, la modification de la densité, de la couleur, et de la forme, l'augmentation de la stabilité et la libération contrôlée des substances actives de matières bioactives d'origine végétale (Nesterenko et al., 2013).

2.1. Définition

L'encapsulation se définit comme le procédé par lequel on prépare des particules individualisées, en enfermant des matières actives solides, liquides ou gazeuses dans ces microcapsules, qui libèrent leur contenu de façon contrôlée dans un environnement choisi sur une période de temps prolongé (Anal et al., 2007).

2.2. Types de microcapsules

Les microcapsules se divisent en deux groupes de particule solides et sphériques :

2.2.1. Microparticules

Présentent une taille comprise entre 1 μm et 1000 μm (1 mm) et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active. Elles peuvent se présenter sous deux types de morphologies distinctes (Ray et al., 2016).

A. Microsphères

Les microsphères ce sont des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions (Ray et al., 2016).

B. Microcapsules

Les microcapsules ce sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant (**Ray et al., 2016**).

2.2.2. Nanoparticules

Les nanoparticules ce sont des systèmes colloïdaux dont la taille est comprise entre 10 et 1000 nm, elles sont à base de polymères généralement biodégradables, ou de lipides capables de retenir des molécules actives par séquestration et/ou adsorption (**Zuidam et al., 2010**).

A. Nanosphères

Les nanosphères ce sont des nanoparticules de type matriciel où le principe actif est dispersé ou dissous dans la matrice de polymère, ou de lipides (**Shishir et al., 2017**).

B. Nanocapsules

Les nanocapsules ce sont des nanoparticules de type réservoir, constituées d'un cœur généralement liquide entouré d'une fine membrane de polymère généralement dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres (**Shishir et al., 2017**).

2.3. Différentes techniques d'encapsulation

La diversité des méthodes rend difficile le choix de la technique en rapport avec les objectifs spécifiques recherchés. L'une des difficultés réside dans le fait que plusieurs termes peuvent désigner la même méthode. C'est le cas par exemple des termes spray-cooling, sprayfreezing et spray-congealing qui désignent la pulvérisation d'un liquide dans une chambre froide en vue de l'obtention de fines particules sèches ou encore le terme extrusion retrouvé dans la littérature sous l'appellation de prilling. C'est également le cas pour la gélification ionotropique et la coacervation, respectivement appelées méthode électrostatique et méthode de séparation de phases (**Nedovic et al., 2011**).

L'autre difficulté est liée à l'interdépendance des procédés utilisés durant les étapes de l'encapsulation. L'émulsification (procédé permettant de former des capsules huileuses ou aqueuses) est une technique d'encapsulation à part entière. Les capsules obtenues peuvent être réticulées dans un bain de solution gélifiante ou subir une évaporation du solvant (**Poncelet et al., 2008**).

La réticulation par gélification et l'évaporation de solvant sont aussi considérées comme des méthodes d'encapsulation à part entière. Pour simplifier, **Poncelet et al. (2008)** ont proposé une description basée sur les différentes étapes de l'encapsulation et non sur les méthodes :

- Incorporation de l'ingrédient bioactif dans la matrice
- Encapsulation proprement dite par des procédés mécaniques
- Stabilisation du système par des procédés chimiques ou physicochimiques

2.3.1. Procédés physicochimiques

A. Gélification ionique

Ce procédé repose sur l'utilisation de la charge opposée entre un polymère et une solution ionique, par exemple l'alginate et le chlorure de calcium, pour créer un gel réticulé. Lorsqu'un composé bioactif est mélangé à la solution d'alginate de sodium et extrudé goutte à goutte dans une solution de calcium à l'aide d'une seringue, la structure d'alginate réticulée ainsi formée prend la forme de particules d'alginate capables d'encapsuler le composé bioactif en leur cœur (**Kim et al., 2003 ; Ching et al., 2017**).

2.3.2. Procédés mécaniques

A. Gélification ou congélation de gouttes (Prilling)

Le principe de la technologie du spray cooling est similaire au principe du spray drying, or il ne s'agit pas de séchage sous air chaud mais de refroidissement rapide de gouttelettes constituées d'une cire à haut point de fusion. Le principe est donc basé sur la solidification des cires (**De Vos et al., 2010**).

La matrice d'encapsulation doit avoir un point de fusion très supérieur à la température de l'air de refroidissement ainsi qu'un pic de solidification le plus fin possible. L'actif peut être solide ou liquide, hydrophobe ou hydrophile. Les microsphères obtenues ont une granulométrie qui varie de 100 à 400 μm , avec un taux d'encapsulation pouvant atteindre 40 à 60 % (**Augustin et al., 2009**).

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

Chapitre III : Matériel et méthodes

3. 1. Echantillons

Un total de cinq échantillons de pollen sont utilisés dans cette étude .Ils ont été collectés au printemps depuis cinq régions différentes de la wilaya de Bejaia on Printemps (Tableau I).

Tableau I : Régions de collecte des échantillons de pollen.

Identifiant	Région de récolte	Année de récolte
P1	Souk El Ténine	2024
P2	Tighremt	2024
P3	Aokas	2024
P4	Adekar	2024
P5	Kherrata	2024

Les échantillons sont conservés à température ambiante et à l’abri de la l’humidité jusqu’à leur utilisation. La figure ci-dessous montre la photographie des échantillons de pollen analysés.

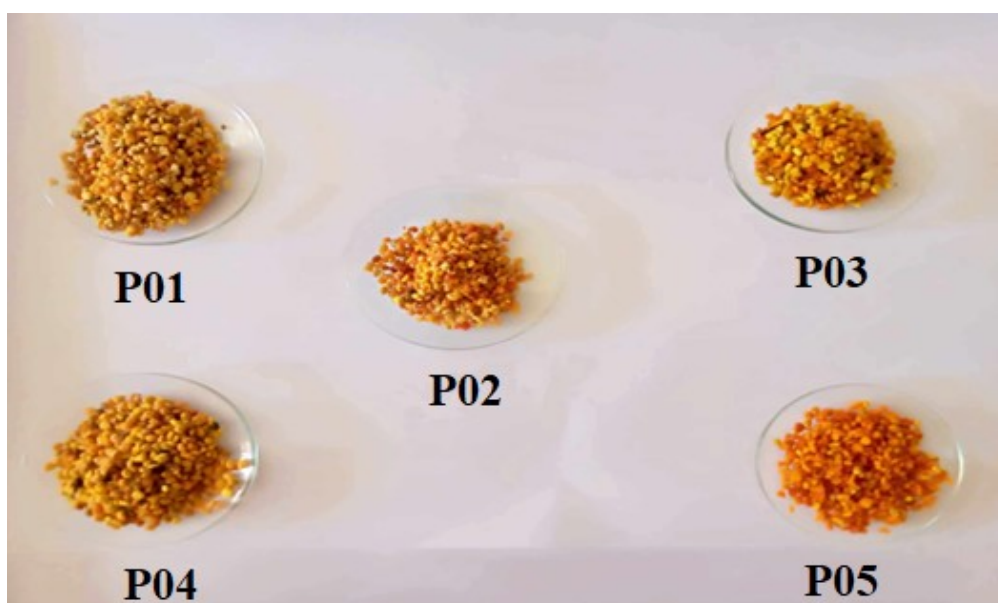


Figure 2 : Photographie des échantillons du pollen (Originale).

3. 2. Protocole d'extraction

Les composés phénoliques sont extraits du pollen selon la méthode de **Rodríguez-González et al. (2018)**. Une quantité de 3 g de pollen est mélangée à 60 ml d'eau distillée. Ce mélange est ensuite placé dans un bain à ultrasons à 40 °C pendant 45 minutes. La solution est ensuite filtrée et centrifugée (3000 rpm pendant 10 minutes) pour éliminer les particules insolubles. Enfin, l'extrait aqueux est conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation pour les analyses.

3. 3. Dosage des antioxydants

3. 3. 1. Dosage des composés phénoliques totaux

La quantité de composés phénoliques est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est composé de acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques, qui sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène par oxydation des phénols, produisant ainsi une couleur bleue proportionnelle à la concentration de ces derniers (**Ribéreau-Gayon et al., 1982 ; Pérez et al., 2023**).

Un mélange de 100 µl de l'extrait aqueux de pollen (50mg/ml, 100 µl de Folin-Ciocalteu et 2 ml de carbonate de sodium (2%) est préparé. Après une incubation de 30 minutes à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 750 nm (**Naithani et al., 2006**). Les résultats des teneurs en composés phénoliques des échantillons de pollen sont exprimés en mg équivalent (E) d'acide gallique (AG) par g de pollen en utilisant la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Annexe I).

3. 3. 2. Dosage des flavonoïdes

Les concentrations en flavonoïdes des extraits de pollen sont déterminées par la méthode au chlorure d'aluminium. Cette méthode repose sur la formation d'un complexe entre l'ion aluminium Al (III) et les groupes carbonyle et hydroxyle des flavonoïdes, ce qui produit une couleur rose proportionnelle à la concentration en flavonoïdes des échantillons de pollen (**Alvarez-Suarez et al., 2009**).

Un mélange de 1 ml d'extrait de pollen et de 0,3 ml de nitrate de sodium (5 %) est préparé. Cinq minutes plus tard, 0,3 ml de chlorure d'aluminium (10 %) est ajouté. Après 6 minutes d'incubation, 2ml d'hydroxyde de sodium (4 %) sont additionnées au mélange et l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 510 nm (**Chang et al., 2002**). Les résultats des teneurs en flavonoïdes des échantillons de pollen sont exprimés en mg équivalent (E) catéchine (C) par g de pollen en utilisant la courbe d'étalonnage de la catéchine (Annexe II).

3. 4. Activités antioxydantes

3. 4. 1. Activité antiradicalaire DPPH

Cette réduction est obtenue grâce au don d'un atome d'hydrogène ou d'un électron par les antioxydants au radical DPPH[•], ce qui se traduit par un changement de couleur de la solution vers un jaune pâle dû à la présence du groupement picryl (Gülçin et al., 2003). L'évaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH repose sur la réduction des radicaux DPPH[•] (qui donnent une couleur violet foncé à la solution) en leur forme réduite DPPH-H

Un volume de 100 µl de l'extrait de pollen est mélangé à 1 ml de la solution méthanolique de DPPH (6 x 10⁻⁵ M). Après homogénéisation et incubation à l'obscurité pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm (Meda et al., 2005). Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire \%} = \frac{(\text{Abs C} - \text{Abs E})}{\text{Abs C}} \times 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle et Abs E : Absorbance de l'échantillon.

3. 4. 2. Activité antiradicalaire ABTS

L'évaluation de l'activité antiradicalaire de l'ABTS est basée sur le contact des radicaux libres ABTS^{•+} de couleur bleu-vert avec des donneurs d'électrons tels que des composés antioxydants de pollen pour former des radicaux ABTS neutres et la décoloration de la solution (Re et al., 1999).

Un volume de 1 ml de la solution ABTS (7 mM) est ajouté à 100 µl d'extrait de pollen. Après une incubation de 7 minutes, l'absorbance du mélange est mesurée à une longueur d'onde de 734 nm. La variation d'absorbance entre la solution contenant l'échantillon et la solution de contrôle (DPPH sont extrait) reflète la capacité des composés présents à neutraliser le radical ABTS^{•+} (Re et al., 1999). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition des radicaux libres ABTS, calculé selon l'équation suivante :

$$\text{ABTS (\%)} = \frac{(\text{Abs C} - \text{Abs E})}{\text{Abs C}} \times 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle et Abs E : Absorbance de l'échantillon.

3. 4. 3. Pouvoir réducteur

L'évaluation du pouvoir réducteur des échantillons de pollen repose sur la détermination de la capacité de ses composés antioxydants à réduire le chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) de couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur de ces échantillons (**Doukani et al., 2014**).

Un volume de 500 μl de l'extrait de pollen est mélangé avec 1500 μl de tampon phosphate (Ph 6,6) et 1500 μl de potassium hexacyanoferrate. Après homogénéisation, la solution est incubée à 50 °C dans un bain-marie pendant 20 minutes. Ensuite, 1500 μl d'acide trichloracétique (TCA) sont ajoutés, puis le mélange est homogénéisé à nouveau. Un volume de 1250 μl de mélange est prélevé et dilué dans 1250 μl d'eau distillée. Ensuite, 1250 μl de chlorure ferrique (FeCl_3) sont additionnés. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 700 nm (**Beretta et al., 2005**). Les résultats sont obtenus selon la formule suivante :

$$\text{Pouvoir réducteur \%} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs C}}{\text{Abs E}} \right) \right] \times 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle et Abs E : Absorbance de l'échantillon.

3. 5. Encapsulation des extraits phénoliques de pollen d'abeille

Un total de cinq extraits aqueux de pollen qui proviennent de différentes régions de Bejaïa (Kherrata, Aokas, Souk El Ténine, Tighremt et Adekar) sont encapsulés en utilisant la technique de gélification ionique.

3. 5. 1. Préparation de la solution gélatine et alginate

Les deux biopolymères sont dissout dans de l'eau ultrapure à l'aide d'un agitateur magnétique. Une quantité de 187 mg d'alginate est dissoute dans 10 ml d'eau ultrapure jusqu'à dissolution complète, et 125 mg de gélatine sont dissoutes dans le même volume d'eau pendant 15 minutes à 50 °C. Les deux solutions sont mélangées pour former le complexe gélatine-alginate, le mélange est ensuite refroidi à température ambiante (**Bastos et al., 2020**).

3. 5. 2. Préparation des capsules

Un volume de 5 ml d'extrait aqueux de pollen est ajouté à la solution gélatine-alginate. Après homogénéisation, le mélange est laissé reposer environ 2 heures pour éliminer les bulles d'air. Le mélange est ensuite ajouté goutte à goutte à l'aide d'une seringue de 5 ml à une solution de chlorure de calcium (4 %). Les capsules ainsi formées sont ensuite conservées dans la solution de CaCl₂ pendant 15 minutes sous agitation magnétique. Après trois lavages à l'eau ultrapure, les capsules sont ensuite séchées à l'air (environ 25 °C) pendant 24 heures (**Dallabona et al., 2020**).

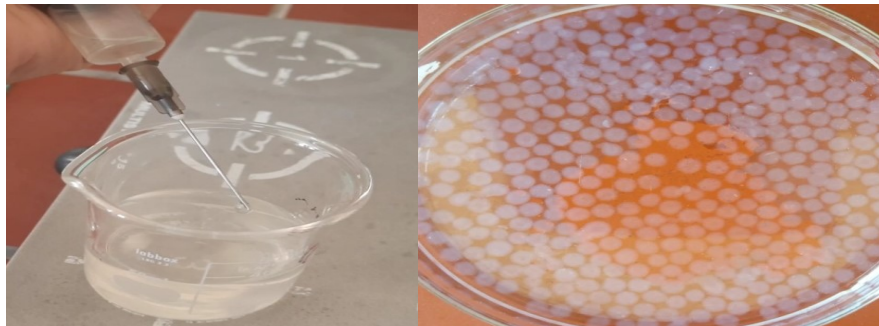


Figure 3 : Etapes de réalisation de l'encapsulation.

3. 6. Caractérisation des capsules

3. 6. 1. Observation microscopique

Les capsules contenant les extraits phénoliques de pollen sont placées sur une lame et une observation au microscope (grossissement 4 × 4) est effectuée pour évaluer leur forme et leur taille. La longueur et la largeur des capsules sont calculées à l'aide du logiciel de traitement d'images Image J.

3. 6. 2. Détermination de l'efficacité d'encapsulation

L'efficacité de l'encapsulation est déterminée en dissolvant 10 mg des capsules séchées dans 5 ml de citrate de sodium (5%). Après homogénéisation et centrifugation à 3000 rpm pendant 20 minutes (**Machado, A.R et al., 2022**). L'efficacité d'encapsulation (EE) est calculée selon la formule suivante :

$$EE = \left(\frac{CPT_e}{CPT_i} \right) \times 100$$

EE : efficacité d'encapsulation ; **CPT_e** : teneur en composés phénoliques totaux encapsulés ; **CPT_i** : teneur initiale en composés phénolique totaux de la solution utilisée lors du processus d'encapsulation.

3. 6. 3. Indice de gonflement

Une quantité de 10 mg de capsules sèches est placées dans des récipients contenant dans 50 ml l'eau distillée. Ensuite les capsules sont retirées des récipients à des intervalles de 0, 30, 60, 90 et 120 minutes et placées sur du papier absorbant pour éliminer l'excès d'eau. Ces dernières sont pesées sur une balance analytique de précision et l'indice S est calculé selon l'équation suivante (**Machado et al., 2022**) :

$$S = \frac{(M_t - M_0)}{M_0}$$

S : l'indice de gonflement ; **M₀** : la masse initiale des particules sèches ; **M_t** : masse des particules après immersion dans l'eau à un intervalle de temps donné.

3. 6. 4. Cinétique de libération des composés phénoliques

La libération des composés phénoliques à partir des capsules est évaluée en immergeant celle-ci dans du HCl à un pH de 1,5 et du Tampon phosphate à un pH de 7,2, afin de simuler le pH des environnements gastrique et intestinal, respectivement.

Une quantité de 50 mg de capsules est placé dans 4 ml de milieu de libération (HCl et Tampon phosphate). Pendant ce processus, le mélange est maintenu sous agitation à une vitesse de rotation de 400 tours par minute et à une température de $37 \pm 0,5$ °C.

Des aliquotes de 100 µl de chaque milieu de libération sont prélevés chaque 30 minutes (30, 60, 90, 120, 150, 180 minutes) et mélangés avec 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 2 ml de solution de carbonate de sodium (2%). Les tubes sont ensuite incubés à l'obscurité pendant 30 minutes et l'absorbance est mesurée à 750 nm (**Machado et al., 2022**). La concentration en composés phénoliques dans le milieu de libération est déterminée en se référant la courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Le mécanisme de libération des composés phénoliques à partir des capsules d'alginate-gélatine est évalué en appliquant un modèle de superposition linéaire (LSM). Ce modèle cinétique prend en compte les effets de transport de Fick et du cas II dans les matrices hydrophiles.

Le langage de programmation Python 3.11 a été utilisé pour appliquer l'équation qui décrit ce modèle :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = X \left[1 - \frac{6}{\pi^2} \exp(-k_F t) \right] + (1 - X) [1 - \exp(-k_R t)]$$

3. 7. Analyses statistiques

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type de trois essais. L'analyse statistique est réalisée pour révéler la présence ou l'absence de différences significatives dans les teneurs en antioxydants et les activités antioxydantes entre les extraits de pollen analysés. Pour cela, le logiciel STATISTICA 7.1 est utilisé pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) entre ces différents extraits. Les deux testes Kolmogorov-Smirnov et Levene sont utilisés pour vérifier la normalité et l'homogénéité des variances. Le test post-hoc LSD-Fischer est utilisé pour la comparaison des moyennes des paramètres étudiés. Cependant, l'ANOVA de Kruskal-Wallis est utilisé pour étudier les variables non gaussiennes ou non homogènes. Les résultats sont classés par ordre croissant : a > b > c > d > e. Les valeurs partagées par la même lettre ne présentent aucune différence statistique significative.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

4. 1. Teneurs en antioxydants

4. 1. 1. Teneurs en polyphénols totaux

Les résultats des concentrations en composés phénolique des échantillons de pollen analysées sont présentés dans la figure 4. L'histogramme ci-dessous montre que le pollen de Thighremt a enregistré le taux des polyphénols le plus élevé avec une valeur de 7,1 mg EAG/g. Cependant, l'échantillon de Kherrata a marqué la concentration la plus faible (3,71 mg EAG/g).

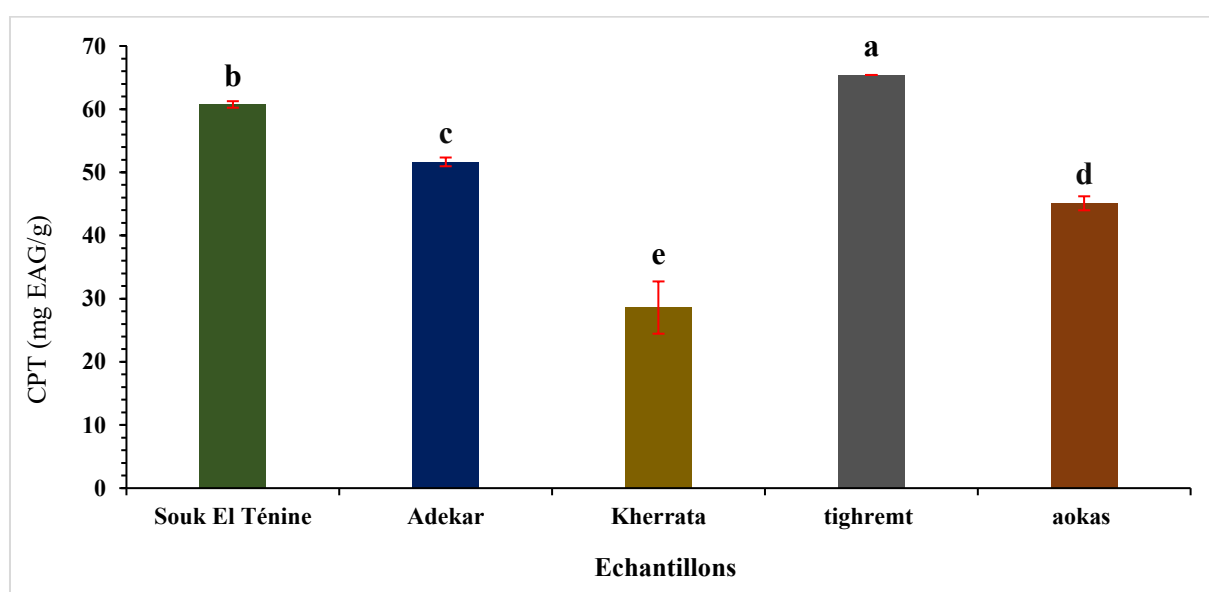


Figure 4 : Teneurs en composés phénoliques totaux des échantillons de pollen.

L'analyse de la variance des teneurs en composés phénoliques totaux a montré des différences significatives à $p < 0,05$ entre les différents échantillons de pollen analysés.

Les concentrations en polyphénols obtenues dans ce travail sont proches de celles trouvées par **Hemmami et al. (2020)** dans le pollen d'Algérie et incluses dans l'intervalle rapporté par **Sawicki et al. (2022)** dans le pollen polonais avec des valeurs respectives de 3,8 à 9,16 mg EAG/g et de 0,47 à 32,52 mg EAG/g.

Les variations dans les niveaux de composés phénoliques totaux du pollen sont dues à plusieurs facteurs tels que les différentes espèces végétales sur lesquelles le pollen est récolté par les abeilles car chaque espèce végétale possède un profil métabolique spécifique influençant la quantité et la nature des composés phénoliques présents (**Pascoal et al., 2014**).

Les conditions géographiques et climatiques comme la température et l'exposition solaire et la pluviométrie ou le type de sol qui jouent un rôle dans la biosynthèse des phénols chez les plantes et la sécheresse ou les rayonnements UV qui se considère comme un stress abiotique stimulent la production de composés phénoliques en tant que mécanisme de défense (Martins *et al.*, 2011).

De plus, la période de récolte et le stade de développement floral influencent la composition phénolique du pollen, car ces composés sont synthétisés à différentes étapes du développement des fleurs (Campos *et al.*, 2008). Les méthodes de récolte, de séchage et de stockage ont également un impact significatif. L'exposition du pollen à la lumière, à la chaleur ou à l'oxygène pendant ces étapes peut entraîner l'oxydation et la dégradation des composés phénoliques, réduisant ainsi leur concentration mesurée (Soares de Arruda *et al.*, 2021).

4. 1. 2. Teneurs en flavonoïdes

Les résultats des teneurs en flavonoïdes présentes dans les extraits de pollen sont illustrés dans la figure 5. Le pollen d'Adekar a montré la concentration la plus élevée (4,71 mg EC/g). Cependant, l'échantillon de Aokas a marqué la concentration la plus faible (0,59 mg EC/g).

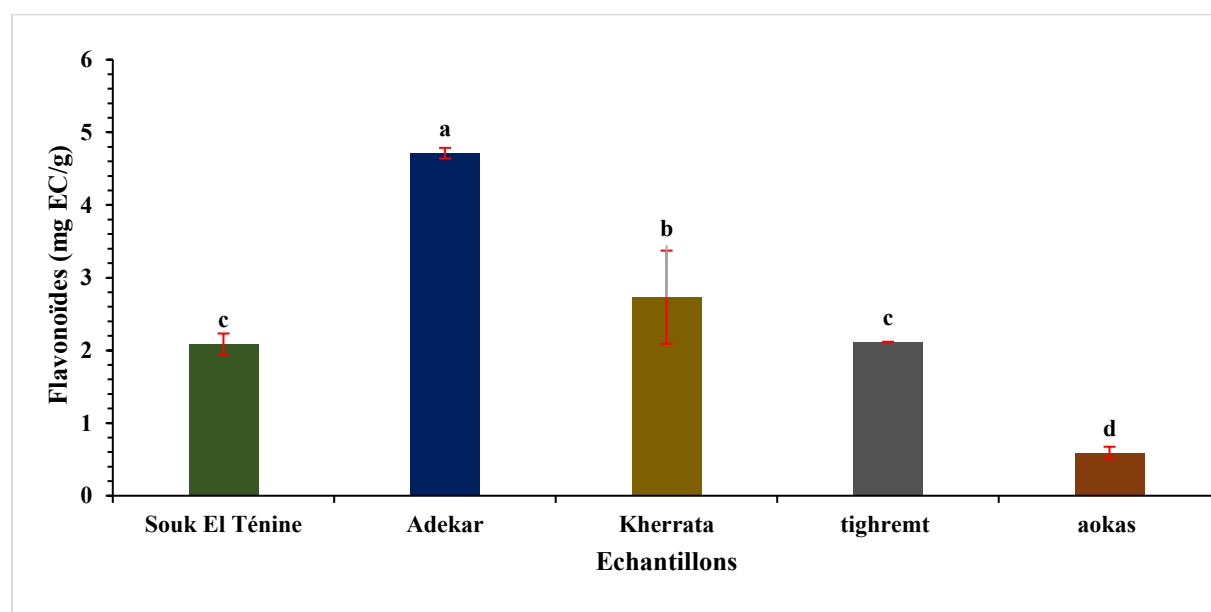


Figure 5 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons de pollen.

L'analyse statistique ANOVA des teneurs en flavonoïdes des échantillons de pollen analysés a montré un groupe homogène (Souk El Ténine et Tighremt) en revanche les autres échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les taux des flavonoïdes obtenus dans ce travail sont supérieurs à ceux trouvés par **Hemmami et al. (2020)** dans le pollen de Roumanie avec des valeurs qui varient de 0,19 à 0,30 mg EC/g et incluses dans l'intervalle rapportés par **Sawicki et al. (2022)** dans le pollen polonais avec des concentration de 0,47 à 32,52 mg EC/g.

Des différences notables ont été observées dans le profil flavonoïque de pollens de la même espèce récoltés dans des régions climatiquement distinctes (**Silva et al., 2021**). Les méthodes utilisées pour extraire et quantifier les flavonoïdes ont un impact majeur sur les résultats obtenus. L'utilisation de solvants comme le méthanol ou l'éthanol, combinée à l'extraction par ultrasons, augmente le rendement en flavonoïdes (**Nadeem, 2023**).

4. 2. Activités antioxydantes

4. 2. 1. Activité antiradicalaire DPPH

Les résultats de l'activités antiradicalaires DPPH pour les extraits de pollen sont présentés dans la figure 6. L'échantillon de Kherrata marque l'activité la plus élevée avec une valeur de 71,73 % qui est similaire à celle de standard acide ascorbique (71,77 %). Cependant, l'échantillon Adekar montre le pourcentage d'inhibition de radicaux libres DPPH le plus faible avec une valeur de 35 %.

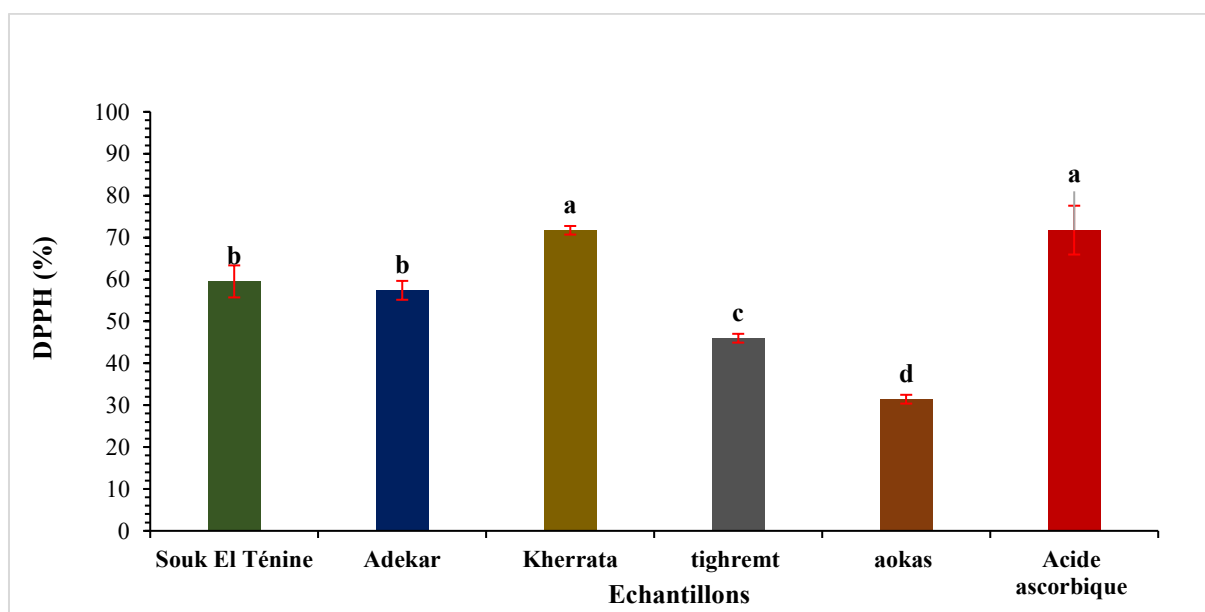


Figure 6 : Résultats des activée antiradicalaires DPPH des échantillons de pollen.

L'analyse ANOVA de l'activité antiradicalaire DPPH montre que l'échantillon (Kherrata et l'acide ascorbique) et (Souk EL Ténine et Adekar) présentent un groupe homogène et le reste des échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les résultats de l'activité antiradicalaire DPPH obtenus sont inclus dans l'intervalle trouvés par **Lija et al. (2007)** qui varie de 8,6 jusqu'à 91,3 %. En revanche, **Bedjih et al. (2025)** ont rapporté des valeurs (58,55 à 84,85 %) supérieures à celles obtenues dans la présente étude.

L'activité antiradicalaire varie dans les extraits de pollen selon plusieurs facteurs. Les différences des concentrations en flavonoïdes influencent la neutralisation des radicaux libres de sorte que les polyphénols ont une capacité élevée à céder des électrons à l'atome hydrogène ce qui augmente l'activité antioxydante (**Tutun, 2021**).

4. 2. 2. Activité antiradicalaire ABTS

Les résultats de l'activité antiradicalaire ABTS réalisée sur les différents échantillons de pollen sont représentés dans l'histogramme ci-dessous (figure 7). Dans lequel on remarque que l'acide ascorbique marque la plus grande activité antiradicalaire (87,22 %) et l'extrait d'Aokas enregistre la plus faible activité avec une valeur de 24 %.

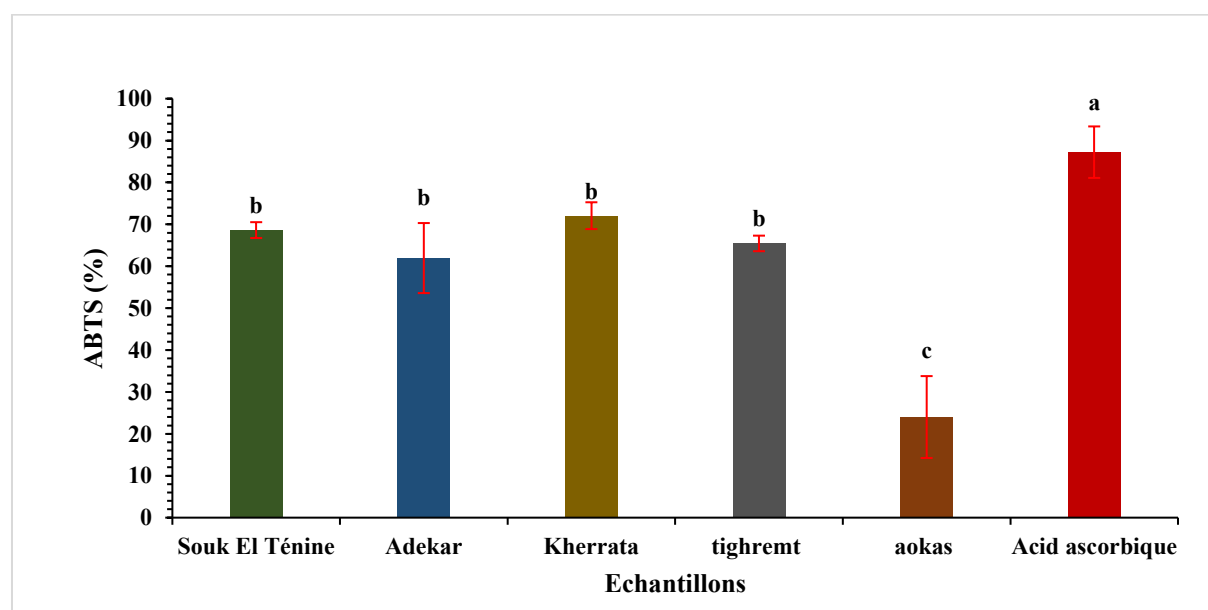


Figure 7 : Résultats des activités antiradicalaires ABTS des échantillons de pollen.

L'analyse ANOVA montre que les extraits de Souk El Ténine, Adekar, Kherrata et Tighremt forment un groupe homogène et l'extrait Aokas et l'acide ascorbique sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les résultats de l'activité antiradicalaire ABTS trouvée dans les extraits de pollen analysés sont inférieurs aux résultats rapportés par **Bedjih et al. (2025)** avec des valeurs qui varient de 88,62 à 90 %.

La capacité antioxydante des flavonoïdes dépend fortement de la présence du nombre et de la position des groupes hydroxyles (-OH) sur leur squelette aromatique. Les flavonoïdes possédant des groupes hydroxyles en positions ortho sur le cycle B (3',4'), comme la quercétine, présentent une activité antioxydante élevée. Cette disposition favorise la formation d'un système catéchol, qui permet une meilleure délocalisation des électrons après le don d'un atome d'hydrogène stabilisant le radical formé (Zhang et al., 2020).

En revanche, des molécules telles que la kaempférol, qui ne présentent qu'un seul hydroxyle sur le cycle B (position 4'), montrent une activité antioxydante modérée, en raison d'une moindre capacité de stabilisation radicalaire (Kolar et al., 2024).

Il convient également de noter que la méthylation de certains groupes hydroxyles, remplaçant -OH par -OCH₃ diminue l'activité antioxydante et même si deux échantillons de pollen présentent une quantité similaire de flavonoïdes, leur composition qualitative et structurale peut expliquer des différences notables leurs résultats dans le test ABTS. La richesse en flavonoïdes fortement hydroxylés comme la quercétine est donc un facteur déterminant de l'activité antiradicalaire (Moalin et al., 2011).

4. 2. 3. Pouvoir réducteur

Le figure 8 illustre le pouvoir réducteur des différents échantillons de pollen analysés, exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus montrent que l'échantillon d'Adekar présente le pouvoir réducteur le plus élevée (87,62 %), tandis que l'échantillon d'Aokas affiche la valeur la plus faible (49,69 %).

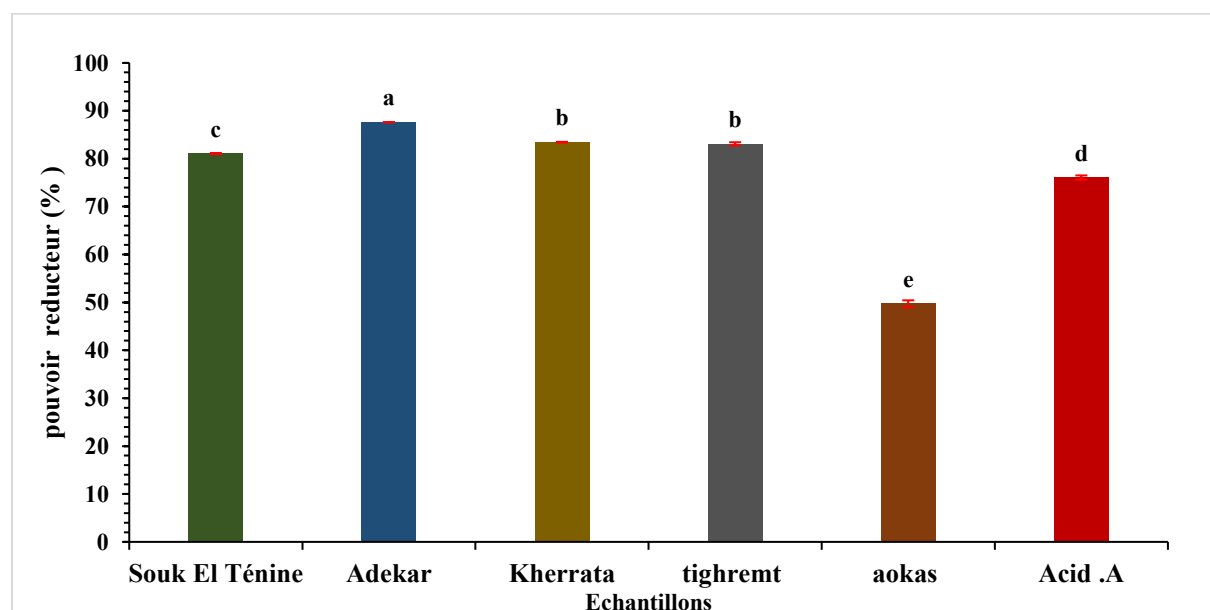


Figure 8 : Résultats de pouvoir réducteur des échantillons de pollen.

L'analyse statistique de pouvoir réducteur des échantillons analysés révèle un seul groupe homogène (kherrata et Tighremt). En revanche, les autres extraits (Aokas, Souk El Ténine et Adekar) et l'acide ascorbique sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

La variation de pouvoir réducteur explique par la déférence dans la composition biochimique des échantillon que la concentration élevée en composés phénolique notamment les flavonoïdes et positivement corrélée au pouvoir réducteur e (Pascoal et al., 2014) et la structure moléculaire des composée antioxydant et les interactions synergique entre les échantillons (Kostic et al., 2020).

4. 3. Encapsulation

4. 3. 1. Morphologie

A. Taille des capsules

Les données de tableau II fournissent une caractérisation morphométrique des capsules de pollen pour les cinq types de capsules (Souk El Ténine, Adekar, Kherrata, Tighremt et Aokas), en termes de longueur (L) et de largeur (l). Les valeurs présentées incluent la moyenne \pm écart-type, ainsi que la plage de variation de tailles (min-max). Ces mesures, ont été obtenu avec le logiciel Image J puis traites avec Excel.

Tableau II : Taille des capsules élaborées.

Echantillons	Taille (mm)		Min-Max	Distribution de la taille (mm)		Pourcentage (%)
Souk El Ténine	L	1,53 \pm 0,37	0,606 -2,692	<1,53	50	
				>1,53	50	
	I	1,43 \pm 0,39	0,347 - 2,5	< 1,43	50	
				>1,43	50	
Adekar	L	1,39 \pm 0,42	0,649 -2,596	<1,39	62,79	
				>1,39	37,21	
	I	1,34 \pm 0,39	0,336- 2,685	<1,34	37,21	
				>1,34	62,79	
Kherrata	L	1,43 \pm 0,4	0,608-2,585	<1,43	54,40	
				>1,43	45,60	
	I	1,42 \pm 0,42	0,608 -2,454	<1,42	60,40	
				>1,42	39,60	
Tighremt	L	1,85 \pm 0,50	0,769 -3,075	<1,85	43,03	
				>1,85	56,97	
	I	1,52 \pm 0,41	0,383 -2,425	<1,52	37,21	
				>1,52	62,79	
Aokas	L	1,75 \pm 0,378	1,051 -2,493	<1,75	53,50	
				>1,75	46,50	
	I	1,32 \pm 0,36	0,577 -2,41	<1,32	50	
				>1,32	50	

L'échantillon de Tighremt présente les moyennes de longueur ($L = 1,85$) et de largeur ($l = 1,52$) les plus élevées. Cela dit que les capsules de pollen de cette région sont en moyenne, significativement plus grandes que celles des autres échantillons.

L'échantillon Aokas suit Tighremt en termes de longueur moyenne ($L = 1,75$), et sa largeur moyenne ($l = 1,32$) est comparable à celle de Tighremt relative à la largeur des autres échantillons. Kherrata ($L = 1,43$; $l = 1,42$) est légèrement plus petit que Aokas en longueur mais a une largeur moyenne élevée, similaire à celle de Tighremt et Aokas.

Les échantillons Souk El Ténine ($L = 1,53$; $l = 1,43$) et Adekar ($L = 1,39$; $l = 1,34$) présentent les plus petites moyennes de longueur et de largeur. Adekar est le plus petit des cinq échantillons en moyenne. Malgré sa grande taille moyenne, Tighremt présente les plus grands écarts-types pour la longueur ($\pm 0,50$) et la largeur ($\pm 0,41$). De plus, sa taille Min-Max est la plus étendue (0,769 - 3,075 mm pour la longueur ; 0,383 - 2,425 mm pour la largeur). Cela indique une variabilité morphologique notable au sein de cet échantillon, avec des capsules allant de très petites à très grandes.

Les écarts-types pour Souk El Ténine, Adekar, Kherrata, et Aokas sont relativement comparables, se situant autour de $\pm 0,3$ mm à $\pm 0,4$ mm. Cela suggère un degré de variabilité interne similaire pour ces groupes, bien que leurs moyennes diffèrent. Les tailles Min-Max confirment également cette variabilité, montrant que même les échantillons de petite taille moyenne peuvent contenir quelques capsules plus grandes et inversement.

Le tableau fournit également une "Distribution de la taille (mm)" et un "Pourcentage (%)". Cela indique la proportion de capsules dont la taille est inférieure ou supérieure à une certaine valeur seuil, qui est liée à la moyenne de chaque échantillon. Pour Souk El Ténine, 50% des capsules sont $<1,53$ mm et 50% sont $>1,53$ mm pour la longueur (L), ce qui est attendu si la moyenne est au centre de la distribution. Des observations similaires s'appliquent pour Aokas.

Pour Adekar, 62,79% des capsules ont une longueur (L) $<1,39$ mm, et 37,21% sont $>1,39$ mm. Ceci indique une distribution légèrement asymétrique où une proportion plus importante de capsules est plus petite que la moyenne, suggérant des extrémités plus longues vers les capsules de grandes tailles. On a observé des valeurs similaires pour Kherrata et Tighremt, avec un taux plus élevé de capsules en dessous de leur moyenne respective pour la longueur.

B. Etude microscopique

Les images de la figure 9 montrent que les particules obtenues à partir des différentes régions ont des formes variées mais tendent vers la même morphologie, avec une forme ovale ou ronde, mais certains présentaient des irrégularités ou une saillance due au processus d'égouttage. La surface de presque toutes les capsules n'était pas lisse.

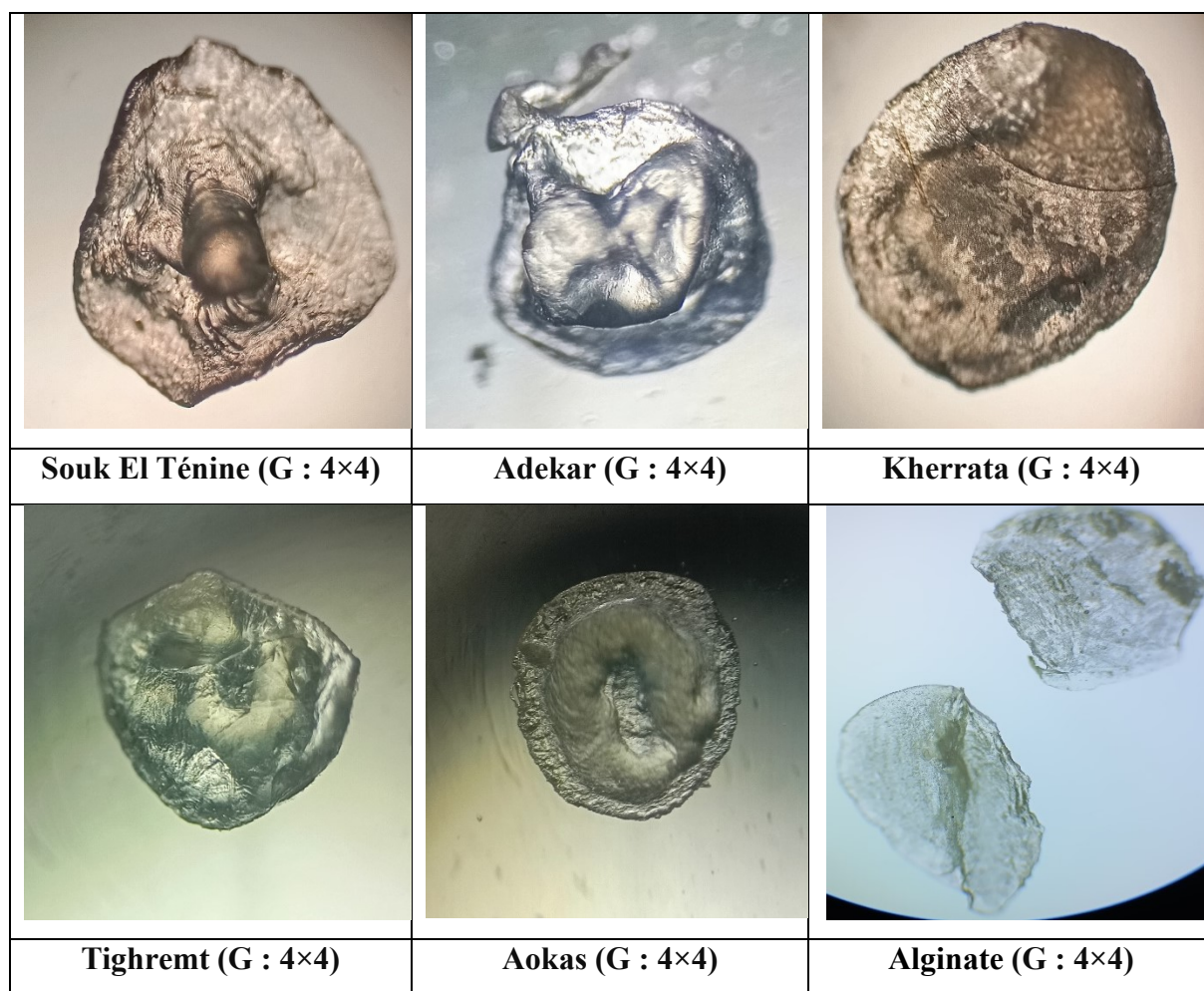


Figure 9 : les capsules sous le microscope optique

Pour la plupart des images (Souk El Ténine, Adekar, Tighremt, Aokas), on observe clairement des saillances visibles. Par contre pour la particule (Kherrata) est un peu différente. Elle semble plus aplatie et présente une texture de surface plus rugueuse, sa forme est plus irrégulièrement ovoïde.

Etant donné la constance du grossissement (4×4), les structures Souk El Ténine, Adekar, Kherrata, Tighremt et Aokas semblent avoir une taille générale comparable dans le champ de vision, suggérant des dimensions similaires à ce grossissement.

4. 3. 2. Efficacité d'encapsulation

Les résultats de l'efficacité d'encapsulation des différents échantillons des capsules sont présentés dans la figure 10. L'histogramme ci-dessous montre que la meilleure capacité est obtenue par l'extrait de Souk Ténine avec une valeur de 88 % et la faible capacité d'encapsulation est marqué par l'extrait d'Aokas (78 %).

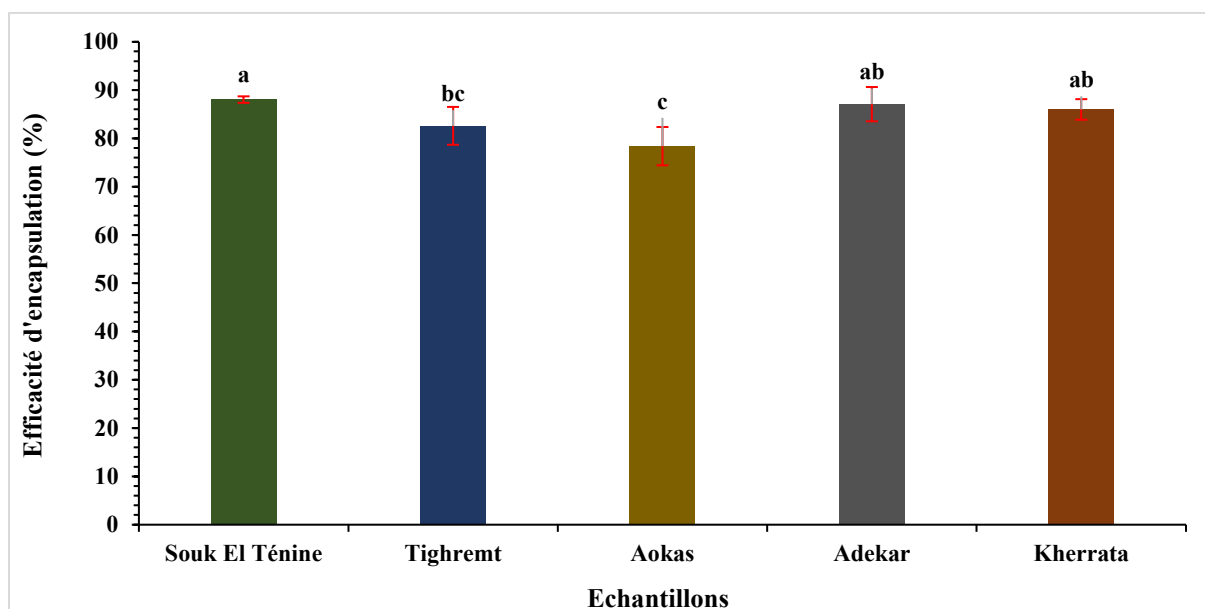


Figure 10 : Résultats des efficacités d'encapsulation.

L'analyse de la variance de l'efficacité d'encapsulation révèle que les capsules obtenues des extrais de Souk El Ténine ne sont pas statistiquement différentes de celles de Kherrata et Adekar. Les capsules de Tighremt ne présentent pas de différences significatives avec celles de Kherrata et Adekar. Cependant, l'extrait de souk El Ténine est significativement différent de celui de Tighremt. De plus, les capsules des extrais d'Aokas ne sont pas statistiquement différentes de celles de Tighremt mais statistiquement différentes de celles des autres échantillons.

L'efficacité d'encapsulation varie entre 78 et 88 % pour les différents échantillons. Tous les échantillons montrent une efficacité d'encapsulation relativement élevée, ce qui est positif pour la technique de la gélification ionique, qui s'est révélée très efficace. L'échantillon Souk El Ténine (environ 88%) présente la plus haute efficacité d'encapsulation suivi par les échantillons Adekar (environ 83%) Kherrata puis Tighremt. L'échantillon d'Aokas (environ 78%) a l'efficacité d'encapsulation la plus faible.

4. 3. 3. Indice de gonflement

Le graphique 11 illustre l'indice de gonflement qui reflète la capacité d'absorption des capsules en mesurant leur poids (en mg) au fil du temps (sur 120 minutes) pour les six échantillons distincts (Souk El Ténine, Kherrata, Tighremt, Aokas, Adekar, Témoin).

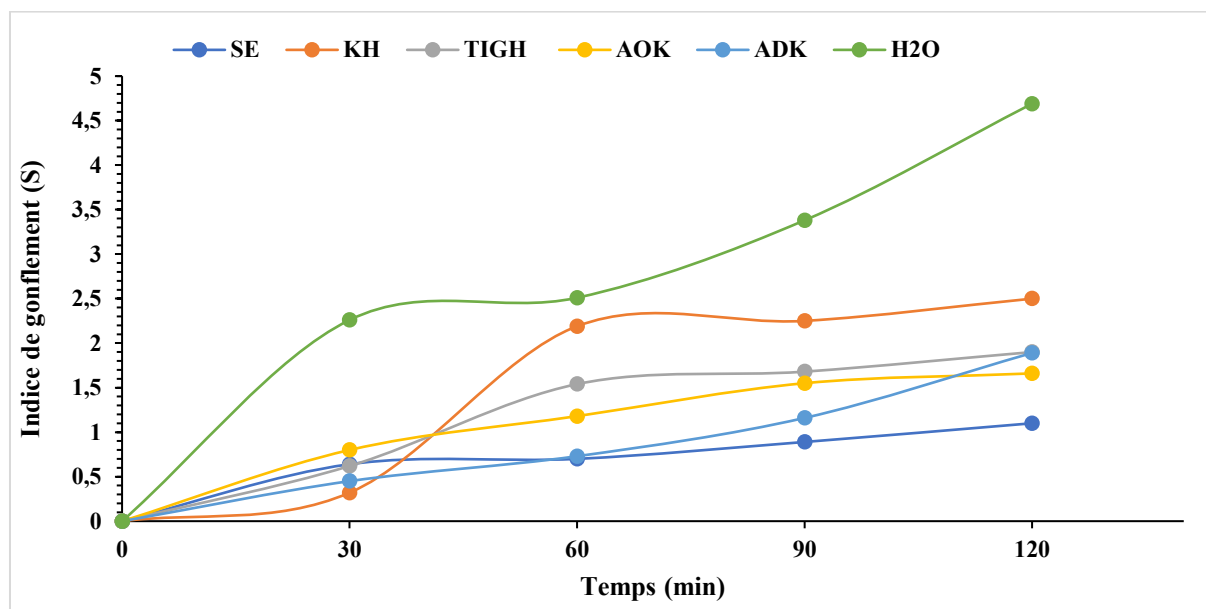


Figure 11 : Courbes des indices de gonflement (S).

Pour tous les échantillons, l'indice de gonflement des capsules augmente avec le temps, indiquant que les capsules absorbent du liquide et gonflent. Ce processus est particulièrement rapide durant les premières 30 minutes, puis tend à ralentir.

L'échantillon témoin se distingue clairement par son indice de gonflement le plus élevé. Il commence au même poids initial (environ 10 mg) que les autres, mais son poids augmente de manière beaucoup plus significative, atteignant près de 58 mg après 120 minutes. Sa pente est la plus raide au début et continue d'être plus élevée que les autres sur toute la durée de l'expérience, indiquant une excellente capacité d'absorption et un gonflement soutenu.

L'échantillon Kherrata montre une bonne capacité de gonflement, se classant en deuxième position. Il atteint environ 35 mg après 120 minutes, avec une cinétique de gonflement relativement rapide. Les échantillons Tighremt, Aokas, Souk El Ténine et Adekar présentent des performances de gonflement plus modérées et assez proches les unes des autres. Ils atteignent des poids finaux variant entre environ 20 mg et 30 mg après 120 minutes. Tighremt semble légèrement supérieur à Aokas, Souk El Ténine et Adekar.

Aokas et Souk El Ténine ont des profils de gonflement très similaires, atteignant des poids finaux proches. Adekar montre le profil de gonflement le plus bas, mais reste supérieur à la moyenne du début. Pour la plupart des échantillons, la phase initiale (0 à 30 minutes) est celle où le gonflement est le plus rapide, avec une augmentation significative du poids.

Au-delà de 30 minutes, la vitesse de gonflement ralentit pour la plupart des échantillons, suggérant que les capsules approchent de leur capacité maximale d'absorption ou que la diffusion de l'eau à l'intérieur devient plus lente. L'échantillon Témoin est une exception notable, où la vitesse de gonflement reste élevée.

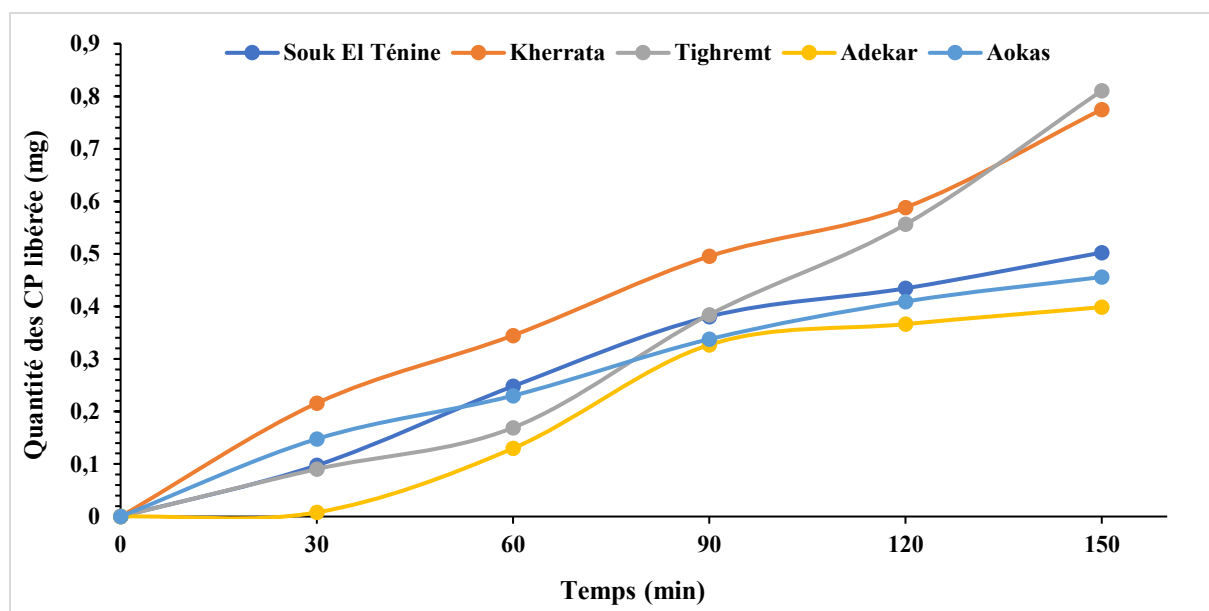
4. 3. 4. Profils de libération

A. Libération en milieu acide

La figure 12 représente les profils de libération des composés phénoliques à partir des capsules de Souk El Ténine, Kherrata, Tighremt Aokas, Adekar dans le milieu acide. Les courbes de Souk El Ténine, Kherrata et Aokas montrent une relation linéaire entre la quantité de composés phénoliques libérée et le temps, tandis que les courbes de Tighremt, Adekar et sont presque linéaires. Cela démontre que la libération des composés phénoliques des capsules étudiées dans le milieu acide est temps-dépendante.

Les résultats obtenus montrent une faible libération des polyphénols à 30 minutes (t_{30}) pour l'extrait d'Adekar avec une valeur de 0,01 mg, suivi par les extraits de Tighremt (0,09 mg), Souk El Ténine (0,1 mg) et Aokas (0,15 mg), tandis que l'extrait de Kherrata marque le taux de libération le plus élevé (0,21 mg). Les courbes ci-dessous montrent également des différences de libération nettement visibles à 150 minutes (t_{150}) entre TIGH (0,81 mg), Kherrata (0,77 mg), Souk El Ténine (0,50 mg), Aokas (0,45 mg) et Adekar (0,40 mg).

La libération des composés phénoliques à partir des capsules de Souk El Ténine, Kherrata, Tighremt, Adekar et Aokas est très faibles en milieu acide. Cela peut s'expliquer par la présence de groupes carboxyles qui dissocient ou incorporent des protons qui rend le comportement de l'alginate dépendant du pH. Lorsque le pH de milieu est inférieur au pKa des acides constitutifs de l'alginate tels que le D-mannuronique (pKa = 3,38) et L-guluronique, (pKa = 3,65), ce polymère incorpore des protons et devient insoluble, protégeant ainsi les composés phénoliques encapsulés (Machado et al., 2022).



Figures 12 : Courbe de libération des composés phénoliques en milieu acide à partir des capsules élaborées avec les extraits de Souk El Ténine, Kherrata, Tighremt, Adekar et Aokas.

B. Libération en milieu neutre

Les figures 13 et 14 représentent les profils de libération en milieu neutre (tampon phosphate) des composés phénoliques à partir des capsules obtenues des extraits de Souk El Ténine, Kherrata, Tighremt Aokas et Adekar. Le rapport $M(t)/M(\infty)$ représente la quantité des phénols libérée à l'instant (t) par rapport à la quantité totale libérable de ces composés.

Les courbes ci-dessous montrent une libération exponentielle des composés phénoliques des différents types de capsules en fonction de temps. Les capsules Kherrata, Souk El Ténine et Aokas, révèlent que 50 % des composés phénoliques sont libérés respectivement à 4, 6 et 7 minutes. En revanche les capsules de Adekar et Tighremt ont atteint cette quantité à 27 minutes. Ce qui démontre que la vitesse de libération pour les extraits Souk El Ténine, Kherrata, Aokas, est largement supérieure à celles des extraits Adekar et Tighremt.

A partir de 30 minutes (t_{30}), les capsules de Kherrata, Souk El Ténine et Aokas montrent une similitude de profils de libération avec des taux respectives de 67, 65 et 66 %. Ces mêmes extraits marquent une légère augmentation dans la libération des composés phénoliques à 60 (t_{60}), 90 (t_{90}) et 120 (t_{120}) minutes jusqu'à 150 (t_{150}) minutes dont les pourcentages de composés phénoliques libérés dans le milieu à tampon phosphate sont de 94, 93 et 93 %, respectivement.

Les courbes relatives aux extraits de Adekar et Tighremt révèlent des taux de libération de 52 et 56 % à t_{30} et une légère augmentation de la quantité de composés phénoliques libérés à t_{60} , t_{90} et t_{120} t avec un maximum de libération marqué a t_{150} de 91 et 92 %.

Les résultats obtenus montrent deux types de courbes distinctes. Les courbes des extraits de Kherrata et, Souk El Ténine et Aokas sont caractérisées par une libération de la moitié des composés phénoliques libérable dans le milieu à tampon phosphate pendant 4 à 7 minutes. Ces courbes montrent un maximum de libération de 93 à 94 % à t_{150} . En revanche, les extraits de Adekar et Tighremt libèrent 50 % de leurs contenus phénoliques pendant 27 min et atteignent 91 et 92 % à t_{150} .

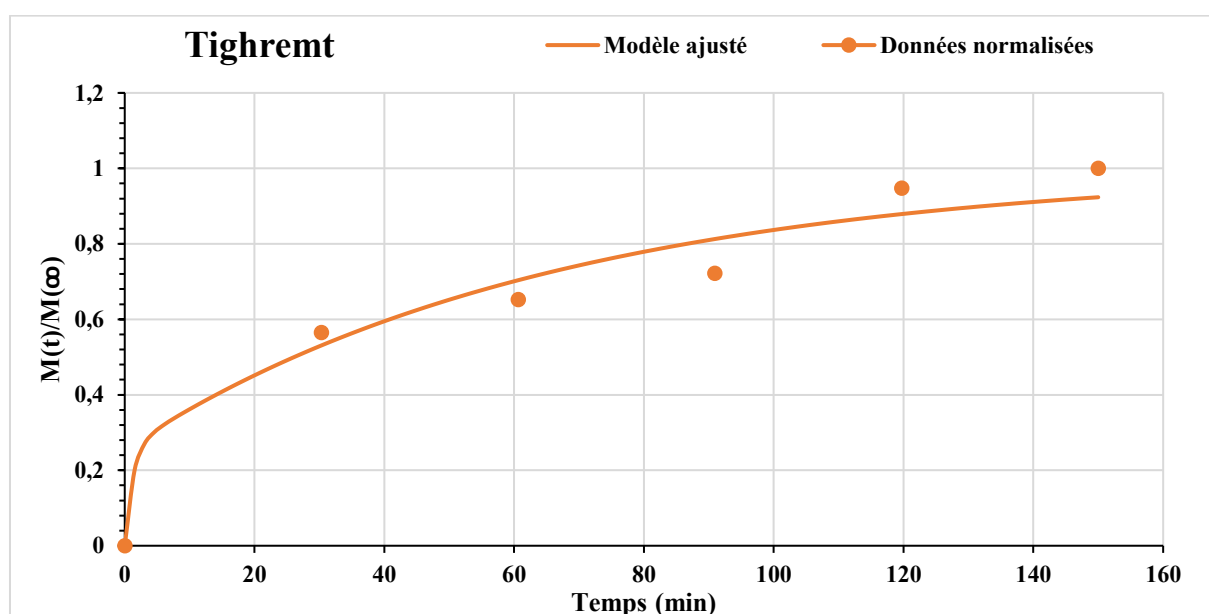


Figure 13 : Courbe de libération des composés phénoliques en milieu neutre à partir des capsules élaborées avec l'extraits de Tighremt.

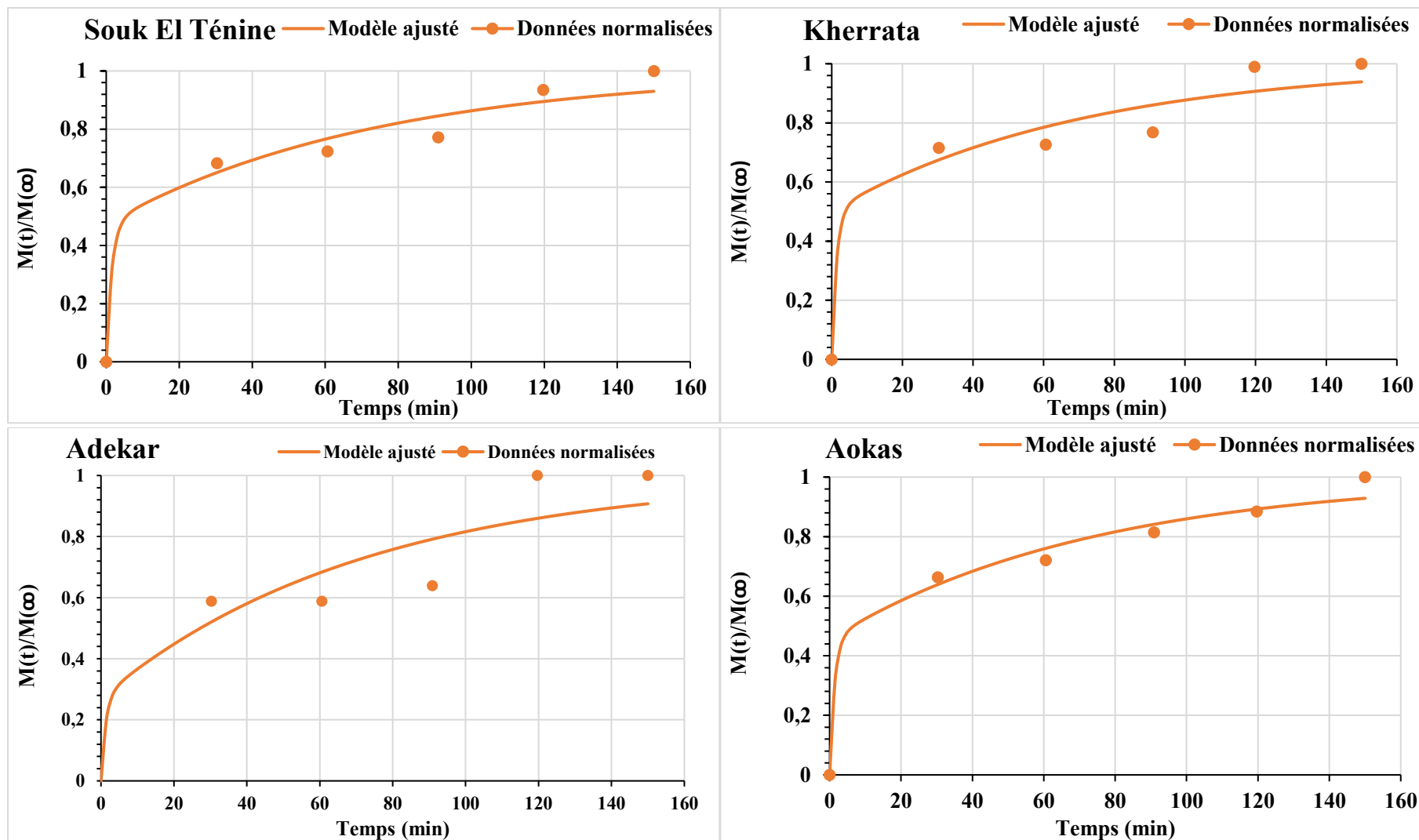


Figure 14 : Courbe de libération des composés phénoliques en milieu neutre à partir des capsules élaborées avec les extraits de Souk El Ténine, Kherrata, Adekar et Aokas.

Les paramètres de modèle de superposition linéaire présentés dans le tableau III montrent que les capsules obtenues par les extraits de Souk El Ténine, Kherrata et Aokas sont caractérisés par une libération contrôlée par un mécanisme mixte (diffusion de Fick et relaxation de la matrice polymérique) avec un facteur d'équilibre A proche ou égale à 0,5. Cependant, les capsules de l'extrait Adekar présentent une libération dominée par la diffusion avec $A=0,73$ et celles de Tighremt montrent une libération dominée par un processus de relaxation avec $A=0,26$. Les facteurs de contribution de la diffusion de Fick et de relaxation (k_1 et k_2) révèlent une diffusion rapide et une relaxation lente pour les capsules obtenues des extraits de Souk El Ténine, Kherrata, Tighremt et Aokas. En revanche, les capsules de l'extrait de Adekar montrent une relaxation rapide et une diffusion de Fick négligeable. **Silva, (2018)**.

Tableau III : Paramètres de modèle de superposition linéaire (LSM) pour la libération des composés phénoliques des capsules.

Extrait	A	k_1 (min^{-1})	k_2 (min^{-1})
Souk El Ténine	0,47	0,65	0,01
Kherrata	0,50	0,73	0,01
Tighremt	0,26	0,82	0,02
Adekar	0,73	0,01	0,77
Aokas	0,46	0,73	0,01

A : facteur d'équilibre entre les deux contributions ; **K1** : facteur de contribution de la diffusion de Fick, **K2** : facteur de contribution de la relaxation de la matrice polymérique.

Le mécanisme de diffusion observé est de type **fickien**. Les composés phénoliques stockés à l'intérieur des capsules diffusent progressivement dans le milieu digestif à une vitesse qui dépend à la fois de la perméabilité de la matrice et du gradient de concentration des phénols entre l'intérieur de la capsule et le milieu extérieur. Plus la concentration initiale en composés phénoliques est élevée, plus la vitesse de libération est importante **Gharsallaoui et al., (2015)**.

La diffusion des composés phénoliques est également influencée par la surface de contact entre les capsules et le milieu environnant, plus cette surface est grande, plus le relargage des composés est significatif. En particulier, les molécules situées à proximité de la paroi externe des capsules sont libérées plus rapidement, car leur diffusion à travers les parois est facilitée (**Silva et al., 2018**).

Conclusion

Les résultats obtenus confirment que les échantillons de pollen d'abeille analysés sont riches en composés bioactifs, en particulier l'échantillon de Tighremt, qui se caractérise par une forte concentration en polyphénols, et l'échantillon de Kherrata, qui a enregistré un taux élevé de flavonoïdes. Les échantillons étudiés présentent également des niveaux variables d'activité antioxydante qui est estimée par les activités antiradicalaires DPPH et ABTS et le pouvoir réducteur.

Cette étude a également démontré la possibilité de préparer des capsules à base d'alginate et de gélatine contenant des extraits phénoliques de pollen d'abeille, avec une efficacité d'encapsulation élevée. Les capsules obtenues présentent une morphologie sphérique, un diamètre variable, et une structure de type réservoir, avec un cœur contenant le principe actif entouré d'une membrane d'enrobage.

Les particules obtenues par encapsulation à l'aide de polymères d'alginate et de gélatine montrent un potentiel intéressant dans le contrôle de la libération des composés phénoliques dans des environnements acides et neutres. L'association des deux polymères (alginate et gélatine) offre également une protection efficace aux composés encapsulés dans le milieu acide avec libération progressive de ces composés en milieu neutre.

La technique de gélification ionique utilisée pour l'encapsulation présente plusieurs avantages : elle est simple à mettre en œuvre, facilement transposable à l'échelle industrielle, et fait appel à des matériaux biocompatibles. Ainsi, les particules d'alginate représentent une alternative fiable, économique et prometteuse pour l'encapsulation d'extraits phénoliques de pollen, notamment en vue d'applications futures en tant que complément alimentaire.

Ce travail mérite d'être complété par :

- L'analyse HPLC des composés phénoliques du pollen d'abeille ;
- L'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques libérés dans le milieu neutre ;
- Des tests *in vivo* sur des modèles animaux pour évaluer la protection des composés libérés.

Références bibliographiques

« A »

Algethami, J. S., El-Wahed, A. A. A., Elashal, M. H., Ahmed, H. R., Elshafiey, E. H., Omar, E. M., Naggar, Y. A., Algethami, A. F., Shou, Q., Alsharif, S. M., Xu, B., Shehata, A. A., Guo, Z., Khalifa, S. A. M., Wang, K., & El-Seedi, H. R. (2022). Bee pollen: Clinical trials and patent applications. *Nutrients*, 14(14), 2858. <https://doi.org/10.3390/nu14142858>

Alvarez-Suarez, J., Tulipani, S., Romandini, S., Vidal, A., & Battino, M. Methodological aspects about determination of phenolic compounds and in vitro evaluation of antioxidant capacity in the Honey: A review. *Current Analytical Chemistry*, 5(4), 293–302. <https://doi.org/10.2174/157341109789077768>

Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Avancées récentes dans la microencapsulation de probiotiques pour des applications industrielles et une administration ciblée. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 240-251. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004>

Augustin, M. A., et Hemar, Y. Assemblages nano- et micro-structurés pour l'encapsulation d'ingrédients alimentaires. *Chemical Society Reviews*, 38(4), 902-912. (2009). <https://doi.org/10.1039/B806893P>

Aylanc, V., Larbi, S., Calhella, R., Barros, L., Rezouga, F., Rodríguez-Flores, M. S., Seijo, M. C., El Ghouizi, A., Lyoussi, B., Falcão, S. I., & Vilas-Boas, M. (2023). Evaluation of antioxidant and anticancer activity of mono- and polyfloral Moroccan bee pollen by characterizing phenolic and volatile compounds. *Molecules*, 28(2), 835. <https://doi.org/10.3390/molecules28020835>

« B »

Bastos, L. P. H., Vicente, J., dos Santos, C. H. C., de Carvalho, M. G., & Garcia-Rojas, E. E. (2020). Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation. *Food Hydrocolloids*, 102, 105605. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105605>

Bastos, A. C., Gonçalves, M. C., et Cardoso, S. M (2020). Rôle de l'encapsulation dans la biodisponibilité des composés phénoliques. *Antioxydants*, 9(10). 923. <https://doi.org/10.3390/antiox9100923>

- Bayram, N. E., Gercek, Y. C., Çelik, S., Mayda, N., Kostić, A. Ž., Dramićanin, A. M., & Özkök, A. (2021). Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin—similarities and differences. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), 103004. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103004>
- Bedjih, F., Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Otmani, A., Zaidi, H., Kara, Y., Inan, C., Özkan, I., & Kolaylı, S. (2025). Biochemical properties of different Algerian bee pollen samples. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 18(1) 48–68. <https://doi.org/10.1177/1973798X251318583>
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Maffei Facino, R. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.11.010>
- Blackmore, S., Wortley, A. H., Skvarla, J. J., & Rowley, J. R. (2007). Pollen wall development in flowering plants. *New Phytologist*, 174(3), 483–498. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02060.x>
- Boulfous, N., Belattar, H., Ambra, R., Pastore, G., & Ghorab, A. (2025). Botanical origin, phytochemical profile, and antioxidant activity of bee pollen from the mila region, Algeria. *Antioxidants*, 14(3), 291. <https://doi.org/10.3390/antiox14030291>

« C »

- Campos, M. G. R., Bogdanov, S., de Almeida-Muradian, L. B., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C., & Ferreira, F. (2008). *Pollen composition and standardisation of analytical methods*. Journal of Apicultural Research, 47(2), 154–161. <https://doi.org/10.1080/00218843.2008.11101443> mendeley.com+11
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H.-M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Cheung, A. Y., & Wu, H. M. (2008). Structural and signaling networks for the polar cell growth machinery in pollen tubes. *Annual Review of Plant Biology*., 59(1), 547-572. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092921>

Ching, S. H., Bansal, N., & Bhandari, B. (2017). Alginate gel particles – A review of production techniques and physical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8),1133–1152.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2014.965773>

Ćirić, J., Haneklaus, N., Baltić, T., Simunović, S., Parunović, N., Trbović, D., & Mrdović, B. (2023). Honeybee Pollen as a Bioindicator of Contamination: An Overview. *Meat Technology*, 64(2), 273–276. <https://doi.org/10.18485/meattech.2023.64.2.50>

« D »

Dallabona, I. D., de Lima, G. G., Cestaro, B. I., de Souza Tasso, I., Paiva, T. S., Laureanti, E. J. G., Jorge, L. M. M., da Silva, B. J. G., Helm, C. V., Mathias, A. L., & Jorge, R. M. (2020). M. Development of alginate beads with encapsulated jabuticaba peel and propolis extracts to achieve a new natural colorant antioxidant additive. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1421-1432. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.256>

Dallabona, A. P., Polaquini, C. R., de Lima, F. F., et Grosso, C. R. F (2020). Microencapsulation de composés bioactifs : avantages et applications. *Revue d'ingénierie alimentaire*, 12(3), 251-270. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09224-4>

Daudu, O. M. (2019). Bee pollen extracts as potential antioxidants and inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase enzymes *in vitro* assessment. *Journal of Apicultural Science*, 63(2), 315–325. <https://doi.org/10.2478/jas-2019-0020>

Derksen, J., Van Amstel, A. N. M., Rutten, A. L. M., Knuiman, B., Li, Y. Q., & Pierson, E. S. (1999). Pollen tubes: cellular organization and control of growth. *Anther and Pollen : From Biology to Biotechnology*, 161-174.

De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., et Sikkema, J. (2010). Encapsulation pour la préservation de la fonctionnalité et l'administration ciblée de composants alimentaires bioactifs. *International Dairy Journal*, 20, 292-302.

<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>

Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., & Hacini, Z. (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, 10, 37-49. <https://www.researchgate.net/publication/274389228>

<< E >>

El-Ghouizi, A., Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaid, D., El Meniy, N., Hano, C., & Lyoussi, B. (2023). Bee pollen as functional food: Insights into its composition and therapeutic properties. *Antioxidants*, 12(3), 557. <https://doi.org/10.3390/antiox12030557>

Erdtman, G. (1952). On pollen and spore terminology. *Journal of Palaeosciences*, 1, 169-176.

<< G >>

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107–1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>

Gharsallaoui, A. et al. (2015). Polyphenols encapsulation – application of innovation technologies to improve stability of natural products. *Progress in Semiconductor*,

Guine, R.(2015). Bee Pollen: Chemical Composition and Potential Beneficial Effects on Health. *Current Nutrition & Food Science*, 11(4), 301–308.
<https://doi.org/10.2174/1573401311666150630181615>

Gülçm, İ., Oktay, M., Kireççi, E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371–382. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00098-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00098-0)

<< H >>

Hemmami, H., Ben Seghir, B., Ben Ali, M., Rebiai, A., Zeghoud, S., & Brahmia, F. (2020). Phenolic profile and antioxidant activity of bee pollen extracts from different regions of Algeria. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 31(2), 93–98.<https://doi.org/10.2478/auoc-2020-0017>

Heslop-Harrison, J. (1971). The pollen wall: Structure and development. *In Pollen*. Butterworth-Heinemann, 75-98

Heslop-Harrison, J. S., Schwarzacher, T., & Liu, Q. (2023). Polyploidy: its consequences and enabling role in plant diversification and evolution. *Annals of Botany*, 131(1), 1-10. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac132>

<< J >>

Jain, A., & Thakur, D. (2021). Microencapsulation by Complex Coacervation: A Historical Perspective. *Journal of Food Science and Technology*, 58(5), 1637–1646. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7980176/>

<< K >>

Kiared, G., Bessedik, M., & Riding, J. B. (2017). The aeropalynology of Es-Sénia airport, Oran, northwest Algeria. *Palynology*, 41(1), 121–131. <https://doi.org/10.1080/01916122.2015.1112944>

Kim, S. J., Yoon, S. G., Lee, S. M., Lee, J. H., & Kim, S. I. (2003). Characteristics of electrical responsive alginate/poly(diallyldimethylammonium chloride) IPN hydrogel in HCl solutions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 96(1), 1–5. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(03\)00483-1](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(03)00483-1)

Kolayli, S., Birinci, C., Kanbur, E. D., Ucurum, O., Kara, Y., & Takma, C. (2024). Comparison of biochemical and nutritional properties of bee pollen samples according to botanical differences. *European Food Research and Technology*, 250(3), 799-810. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04428-1>

Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2015/297425>

Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Barać, M. B., Ali Shariati, M., Tešić, Ž. L., & Pešić, M. B. (2020). The application of pollen as a functional food and feed ingredient—the present and perspectives. *Biomolecules*, 10(1), 84. <https://doi.org/10.3390/biom10010084>

<< L >>

Leja, M., Mareczek, A., Wyżgolik, G., Klepacz-Baniak, J., & Czekońska, K. (2007). Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food chemistry*, 100(1), 237-240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.047>

Lord, E. M., & Russell, S. D. (2002). The mechanisms of pollination and fertilization in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 18(1), 81–105. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.18.012502.083438>

<< M >>

Machado, A. H. E., Lundquist, N. G., & Bastos, M. S. R. (2022). Techniques d'encapsulation des composés bioactifs : principes, applications et défis. *Food Hydrocolloids*, 127, 107484.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107484>

Machado, A. R., Silva, P. M. P., Vicente, A. A., Souza-Soares, L. A., Pinheiro, A. C., & Cerqueira, M. A. (2022). Alginate particles for encapsulation of phenolic extract from *Spirulina* sp. LEB-18: Physicochemical characterization and assessment of *in vitro* gastrointestinal behavior. *Polymers*, 14(21), 4759. <https://doi.org/10.3390/polym14214759>

Markham, K. R., & Campos, M. (1996). 7- and 8-O-methylherbacetin-3-O-sophorosides from bee pollens and some structure/activity observations. *Phytochemistry*, 43(4), 763–767.

[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00286-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00286-5)

Martinello, M., & Mutinelli, F. (2021). (Antioxidant activity in Bee products: A review. *Antioxidants*, 10(1), 71. <https://doi.org/10.3390/antiox10010071>

Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology advances*, 29(3), 365-373.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.008>

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91(3), 571-577.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>

Moalin, M., Strijdonck, G. P. F. V., Beckers, M., Hagemen, G. J., Borm, P. J., Bast, A., & Haenen, G. R. M. M. (2011). A planar conformation and the hydroxyl groups in the B and C rings play a pivotal role in the antioxidant capacity of quercetin and quercetin derivatives. *Molecules*, 16(11), 9636–9650. <https://doi.org/10.3390/molecules16119636>

<< N >>

Nadeem, K. (2023). Digitalization and sustainability: An integrative literature review through taxonomy development. *ITAIS 2023 Proceedings*. 8. <https://aisel.aisnet.org/itais2023/8>

Naithani, V., Nair, S., & Kakkar, P. (2006). Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39(2), 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.004>

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). Un aperçu des technologies d'encapsulation pour les applications alimentaires. *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.265>

<< P >>

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. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.010>

Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The chemistry behind the Folin–ciocalteu method for the estimation of (Poly)phenol content in food: Total phenolic intake in a mediterranean dietary pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>

Pospiech, M., Javůrková, Z., Hrabec, P., Štarha, P., Ljasovská, S., Bednář, J., & Tremlová, B. (2021). Identification of pollen taxa by different microscopy techniques. *PLOS ONE*, 16(9), e0256808. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256808>

<< Q >>

Qian, W. L., Khan, Z., Watson, D. G., & Fearnley, J. (2008). Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(1), 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.07.001>

Qiao, J., Feng, Z., Zhang, Y., Xiao, X., Dong, J., Haubruge, E., & Zhang, H. (2023). Phenolamide and flavonoid glycoside profiles of 20 types of monofloral bee pollen. *Food Chemistry*, 405, 134800. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134800>

<< R >>

Ravazzi, C. (2002). Late quaternary history of spruce in southern Europe. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 120(1–2), 131–177. [https://doi.org/10.1016/S0034-6667\(01\)00149-X](https://doi.org/10.1016/S0034-6667(01)00149-X)

Ray, S., Raychaudhuri, U., et Chakraborty, R. (2016). Un aperçu de l'encapsulation des composés actifs utilisés dans les produits alimentaires par la technologie de séchage. *Bioscience alimentaire*, 13, 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.009>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P., & Ribéreau-Gayon, P.(1982). Composés Phénoliques. In « traité d'oenologie, science et technique du vin ». *Edition Dunod*, 477-499.

Rodríguez-González, I., Ortega-Toro, R., & Diaz-Moreno, A. C. (2018). Influence of microwave-and ultrasound-assisted extraction on bioactive compounds from pollen. *Contemporary Engineering Sciences*, 11(34), 1669-1676. <https://doi.org/10.12988/ces.2018.84165>

Rodríguez-Pólit, C., Gonzalez-Pastor, R., Heredia-Moya, J., Carrera-Pacheco, S. E., Castillo-Solis, F., Vallejo-Imbaquingo, R., Barba-Ostria, C., & Guamán, L. P. (2023). Chemical properties and biological activity of Bee pollen. *Molecules*, 28(23), 7768. <https://doi.org/10.3390/molecules28237768>

Rowley, J. R., & Skvarla, J. J. (1975). The glycocalyx and initiation of exine spinules on microspores of *Canna*. *American Journal of Botany*, 62(5), 479–485 <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1975.tb14073.x>

« S »

Sattler, J. A. G., De Melo, I. L. P., Granato, D., Araújo, E., Da Silva De Freitas, A., Barth, O. M., Sattler, A., & De Almeida-Muradian, L. B. (2015). Impact of origin on bioactive compounds and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil: A screening study. *Food Research International*, 77, 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.013>

Sawicki, T., Starowicz, M., Kłębukowska, L., & Hanus, P. (2022). The profile of polyphenolic compounds, contents of total phenolics and flavonoids, and antioxidant and antimicrobial properties of bee products. *Molecules*, 27(4), 1301.

<https://doi.org/10.3390/molecules27041301>

Shishir, M. R. I., et Chen, W. Tendances du séchage par atomisation : une revue critique sur le séchage des jus de fruits et de légumes. *Tendances en science et technologie alimentaires*, 65, 49-67. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.002>

Shubharani, R., Roopa, P., & Sivaram, V. (2017). Pollen morphology of selected bee forage plants. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 2(1), 82-90. (2013).

Silva, T. M. S., Camara, C. A., Da Silva Lins, A. C., Maria Barbosa-Filho, J., Da Silva, E. M. S., Freitas, B. M., & De Assis Ribeiro Dos Santos, F. (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 507–511.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.12.011>

Silva, B. N., Cadavez, V., Ferreira-Santos, P., Alves, M. J., Ferreira, I. C., Barros, L., Teixeira, J. A., & Gonzales-Barron, U. (2021). Chemical profile and bioactivities of extracts from edible plants readily available in Portugal. *Foods*, 10(3), 673

<https://doi.org/10.3390/foods10030673>

Silva, C. M. et al. (2018). *Encapsulation of Polyphenols from Lycium barbarum Leaves into Liposomes... Antioxidants*,

Soares De Arruda, V. A., Viera Dos Santos, A., Figueiredo Sampaio, D., Da Silva Araújo, 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.

<https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1840854>

Setyawan, A. B. (2024). Antidiabetic properties of stingless bee pollen in high-fat diet FED-low dose STZ induced experimental T2DM rats. *Asian Journal of Medicine and Biomedicine*, 8(1), 86-97. <https://doi.org/10.37231/ajmb.2024.8.1.712>

« T »

Taha, E. K. A. (2015). Chemical composition and amounts of mineral elements in Honeybee-collected pollen in relation to botanical origin. *Journal of Apicultural Science*, 59(1), 75–81.

<https://doi.org/10.1515/jas-2015-0008>

Tutun, H., Kaya, M. M., Usluer, M. S., & Kahraman, H. A. (2021). Bee pollen: Its antioxidant activity. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 21(1), 119–131

<https://doi.org/10.31467/uluaricilik.896045>

<< Y >>

Yang, S., Chu, G., Shi, X., & Wang, S.) (2019). Elaborated pollen packaging and dispensing mechanism induced by petal architecture from a Papaveraceae species. *PeerJ*, 7, e7066.

<https://doi.org/10.7717/peerj.7066>

<< Z >>

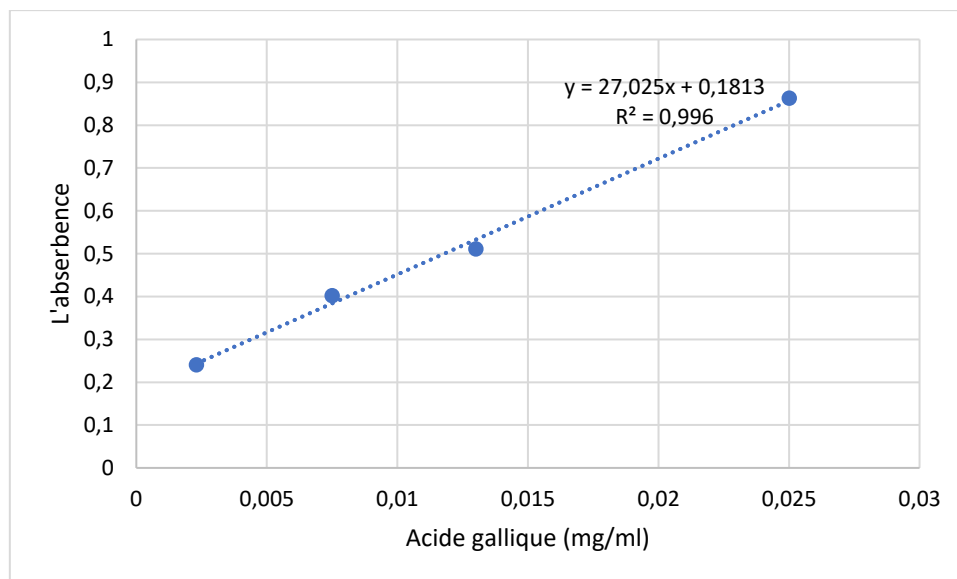
Zhang, Q., Yang, W., Liu, J., Liu, H., Lv, Z., Zhang, C., Chen, D., & Jiao, Z. (2020). Identification of six flavonoids as novel cellular antioxidants and their structure-activity relationship. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–12.

<https://doi.org/10.1155/2020/4150897>

Zuidam, N. J., et Shimoni, E. (2010). Vue d'ensemble des microencapsulats utilisés dans les produits alimentaires ou les processus et les méthodes de fabrication. Dans N. J. Zuidam et E. Shimoni (Eds.), *Microencapsulation in the Food Industry : A Practical Implementation Guide* (pp. 3-29). Presse académique. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404568-2.00001-0>

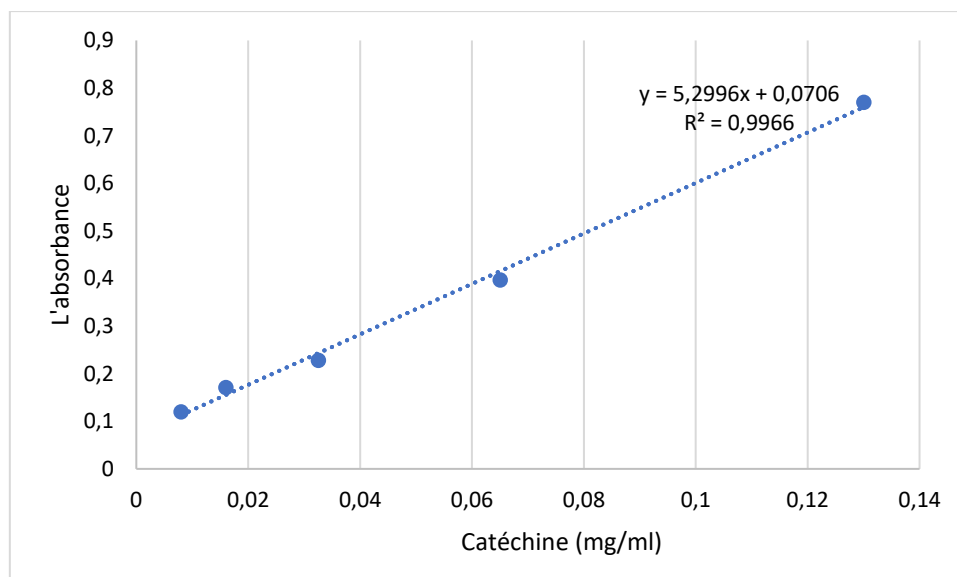
ANNEXES

- Annexe I



Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.

- Annexe II



Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

Résumé

Dans le cadre de la valorisation du pollen en tant qu'ingrédient bioactif, ce travail s'inscrit dans une démarche visant à optimiser l'extraction de ses composés antioxydants et réaliser l'encapsulation. Les échantillons de pollen d'abeilles ont été collectés dans cinq régions de Béjaïa (Souk El Ténine, Tighremt, Aokas, Adekar et Kherrata) pour garantir une diversité botanique représentative. Les extraits aqueux de pollen ont été analysés pour déterminer leur teneur en composés phénoliques totaux et leur activité antioxydante (tests DPPH, ABTS, pouvoir réducteur). L'encapsulation a été réalisée via une mixture de gélatine et alginate suivie par des tests de comparaison (Résultats des efficacités d'encapsulation, Indice de gonflement, Profils de libération). Ces étapes préalables sont essentielles au développement de systèmes d'encapsulation destinés à des applications alimentaires, nutraceutiques ou pharmaceutiques.

Mots clés : pollen, composés phénoliques, activité antioxydante, encapsulation, cinétique de libération.

Abstract

As part of the valorization of pollen as a bioactive ingredient, this work aims to optimize the extraction of its antioxidant compounds and to carry out its encapsulation. Bee pollen samples were collected from five regions of Béjaïa (Souk El Ténine, Tighremt, Aokas, Adekar, and Kherrata) to ensure representative botanical diversity. Aqueous pollen extracts were analyzed to determine their total phenolic content and antioxidant activity (DPPH, ABTS, and reducing power assays). Encapsulation was carried out using a gelatin–alginate mixture, followed by comparative tests (encapsulation efficiency, swelling index, and release profiles). These preliminary steps are essential for the development of encapsulation systems intended for food, nutraceutical, or pharmaceutical applications.

Key words: Pollen, phenolic compounds, antioxidant activities, encapsulation, release kinetics.

ملخص

في إطار تطوير حبوب اللقاح كمكون حيوي نشط، يُعد هذا العمل جزءاً من نهج يهدف إلى تحسين استخلاص مركباتها المضادة للأكسدة وتحقيق التغليف. جُمعت عينات من حبوب لقاح النحل من خمس مناطق في بجاية (سوق التنين، تيغرمت، أوكاس، أديكار، وخراتة) لضمان تنوع نباتي تمثيلي. حُللت مستخلصات حبوب اللقاح المائية لتحديد محتواها الكلي من المركبات الفينولية ونشاطها المضاد للأكسدة (اختبارات DPPH و ABTS وقوة الاختزال). أُجري التغليف باستخدام خليط من الجيلاتين والألجينات، تلتها اختبارات مقارنة (نتائج كفاءة التغليف، ومؤشر الانتفاخ، وملامح الإطلاق). تُعد هذه الخطوات التمهيدية أساسية لتطوير أنظمة التغليف للتطبيقات الغذائية، أو الصيدلانية، أو الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: حبوب اللقاح، المركبات الفينولية، نشاط مضادات الأكسدة، التغليف، حركية الإطلاق.