

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Alimentaires  
Spécialité : Technologie Agro-Alimentaire



Réf:.....

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

**MASTER**

***Thème***

**Fortification d'un biscuit sans gluten par le pollen**

**Présenté par :**

*Mlle CHIBANE Ikram*

Soutenu le : **01/07/2024**

**Devant le jury composé de :**

Mme. FELLA S.	MCB	Présidente
Mme. MERZOUK H.	MCA	Encadrante
Mme. AIDLI A.	MAA	Examinatrice
Mlle. AGABI R.	Doctorante	Invitée

**Année universitaire : 2023/ 2024**

“ La patience en toute voie, garde la  
clef de toute joie. ”

**Louis Belmontet**

# Remerciements



*Ce mémoire a pu être réalisé grâce au soutien de plusieurs individus à qui je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance.*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers **Allah** qui me confère le courage et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*Je souhaite également exprimer ma gratitude sincère Envers la directrice de ce mémoire, Madame **MERZOUK Hafida**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils qui ont contribué à enrichir ma réflexion.*

*Je souhaite exprimer ma gratitude particulière envers la Co-promotrice Mademoiselle **AGABI Rania**, qui a été la première à me faire découvrir le sujet qui a orienté mon mémoire.*

*J'exprime également ma profonde gratitude envers tous les membres du jury :  
À Madame **FELLA**, qui nous a fait l'honneur de prendre la présidence de notre jury de mémoire.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude envers, Madame **AIDLI Amel**, qui a bien voulu évaluer ce travail.*

*Je souhaite également exprimer ma gratitude envers Mademoiselle **DJAOUD Kahina**,  
Mademoiselle **TOUATI Naima** et envers tous les enseignants de l'université **ABDERRAHMANE MIRA-BEJAIA**, spécialement de département science alimentaire, de la faculté de la science et de la nature et de la vie, qui m'ont donné les ressources indispensables pour réussir mes études universitaires.*

**CHIBANE Ikram**

# *Dédicaces*



*Je tiens d'abord à rendre hommage à mon cher **Père Laid** qui n'a pas pu voir mon travail. Même s'il est absent de mes yeux, il reste toujours présent dans mon cœur, une source constante de force et de courage.*

*Je dédie ce travail aussi à :*

*La lumière de mes jours, **chère Maman** ;*

*Mon bras droit, cher **frère Yahia** ;*

*Mes **grands-parents** ;*

*Toute ma grande famille **Chibane** et **Hanache** ;*

*Mes proches : **Sihem, Sara, Karima, Lotfi, Wissam, Ania, Nagham.***

**CHIBANE Ikram**

## Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

### Synthèse bibliographique

I- Généralités sur le pollen d'abeille..... 3

I-1- Définition du pollen..... 3

I-2- Structure et forme du pollen ..... 3

I-3- Composition chimique et valeur nutritionnelle..... 4

I-3-1- Composition chimique..... 4

I-3-2- Valeur nutritionnelle ..... 5

I-4- Propriétés thérapeutiques ..... 5

I-4-1- Antioxydante ..... 6

I-4-2- Anti- angiogénique anti-carcinogénique..... 6

I-4-3- Anti-inflammatoire ..... 6

I-4-4- Antimicrobien et antifong ique..... 6

I-3-5- Activités antidiabétiques ..... 6

I-4-6- Activité immunomodulatrice ..... 6

II- Généralités sur les biscuits ..... 7

II-1- Historique et définition des biscuits..... 7

II-2- Classification des biscuits..... 7

II-3- Ingrédients de biscuit et leurs rôles ..... 7

II-4- Procédé industrielle de fabrication ..... 9

III- Généralités sur les produits sans gluten..... 11

<b>III-1- Définition du gluten .....</b>	<b>11</b>
<b>III-2- Produits sans gluten.....</b>	<b>11</b>
<b>III-2-1 Les céréales .....</b>	<b>11</b>
<b>III-2-2- Les légumineuses.....</b>	<b>13</b>
<b>III-2-3- Autres graines .....</b>	<b>13</b>
<b>III-2-4- Les fruits.....</b>	<b>13</b>
<b>III-3- Maladies liées au gluten.....</b>	<b>15</b>
<b>III-3-1- Maladie cœliaque .....</b>	<b>15</b>
<b>III-3-2- Allergie au blé .....</b>	<b>15</b>
<b>III-3-3- Sensibilité au gluten non cœliaque .....</b>	<b>16</b>

## **Partie expérimentale**

<b>I- Matériel et méthodes .....</b>	<b>17</b>
<b>I-1- Matériel végétal.....</b>	<b>17</b>
<b>I-1-1- Préparation des matières premières .....</b>	<b>17</b>
<b>I-2- Analyses physico-chimiques .....</b>	<b>17</b>
<b>I-2-1- pH.....</b>	<b>17</b>
<b>I-2-2- Taux d'humidité.....</b>	<b>18</b>
<b>I-2-3- Taux de cendre .....</b>	<b>18</b>
<b>I-2-4- Teneur en lipide .....</b>	<b>19</b>
<b>I-2-5- Dosage des caroténoïdes .....</b>	<b>19</b>
<b>I-2-6 Dosage des sucres totaux .....</b>	<b>20</b>
<b>I-2-7- Capacité d'absorption de l'eau et de l'huile.....</b>	<b>20</b>
<b>I-2-8- Extraction des composés phénoliques.....</b>	<b>21</b>
<b>I-2-9- Rendement d'extraction .....</b>	<b>21</b>
<b>I-2-10- Dosage des protéines.....</b>	<b>22</b>
<b>I-2-11- Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>22</b>

<b>I-2-12- Dosage des flavonoïdes .....</b>	<b>23</b>
<b>I-3- Evaluation de l'activité antioxydante de pollen .....</b>	<b>23</b>
<b>I-4- Analyses polliniques de pollen d'abeille.....</b>	<b>24</b>
<b>I-5- Formulation de biscuit.....</b>	<b>24</b>
<b>I-5-1- Ingrédients utilisés .....</b>	<b>25</b>
<b>I-5-2- Plan de mélange .....</b>	<b>25</b>
<b>I-5-3- Étapes de formulation .....</b>	<b>26</b>
<b>I-6- Analyse microbiologiques des biscuits .....</b>	<b>27</b>
<b>I-6-1- Préparation de la solution mère et les dilutions décimales .....</b>	<b>27</b>
<b>I-6-2- Recherche et dénombrement des Germes aérobies à 30 ° C.....</b>	<b>27</b>
<b>I-6-3- Recherche et dénombrement des Escherichia coli.....</b>	<b>27</b>
<b>I-6-4- Recherche et dénombrement des Moisissures.....</b>	<b>28</b>
<b>I-6-5- Recherche et dénombrement des Staphylocoques à coagulase + .....</b>	<b>28</b>
<b>I-6-6- Recherche et dénombrement des Salmonella.....</b>	<b>28</b>
<b>I-7- Analyses sensorielles .....</b>	<b>29</b>
<b>I-8- Analyses physico-chimiques des biscuits.....</b>	<b>29</b>
<b>II- Résultats et discussion .....</b>	<b>30</b>
<b>II -1- Analyses physico-chimiques des matières premières .....</b>	<b>30</b>
<b>II -1-1- pH .....</b>	<b>30</b>
<b>II -1-2- Taux de l'humidité .....</b>	<b>30</b>
<b>II -1-3- Taux de cendres.....</b>	<b>31</b>
<b>II -1-4- Teneur en lipides .....</b>	<b>31</b>
<b>II -1-5- Teneur en caroténoïdes.....</b>	<b>32</b>
<b>II -1-6- Teneur en sucres totaux.....</b>	<b>32</b>
<b>II -1-7- Capacité d'absorption de l'eau et de l'huile .....</b>	<b>33</b>
<b>II -1-8- Rendement d'extraction .....</b>	<b>34</b>

II -1-9- Teneur en protéines.....	35
II -1-10- Teneur en polyphénols totaux .....	36
II -1-11- Dosage des flavonoïdes.....	37
II -2- Evaluation de l'activité antioxydante du pollen .....	37
II -3- Analyses polliniques .....	39
II -4- Analyses microbiologiques des biscuits .....	40
II -5- Analyses sensorielles.....	40
II -6- Analyses physico-chimiques des biscuits .....	41
II -6-1- pH .....	42
II -6-2- Taux de l'humidité .....	42
II -6-3- Taux des cendres .....	43
II -6-4- Teneur en lipides .....	43
II -6-5- Teneur en sucres totaux.....	43
II -6-6- Teneur en protéines.....	43
II -6-7- Rendement d'extraction .....	43
II -6-8- Teneur en polyphénols totaux .....	44
II -6-9- Teneur en flavonoïdes .....	44
II -6-10- Teneur en caroténoïdes.....	44
Conclusion et perspectives.....	45

## **Références bibliographiques**

### **Annexes**

### **Résumé**



## **Liste des tableaux :**

<b>Tableau I :</b> Composition chimique (g/ 100g) d'un échantillon de pollen d'abeille.....	4
<b>Tableau II :</b> Recette de biscuits pour 100 g d'ingrédients totaux .....	25
<b>Tableau III :</b> Différentes combinaisons expérimentales des biscuits à élaborés.....	26
<b>Tableau IV :</b> Classification des biscuits en fonction de l'ordre numérique.....	29
<b>Tableau V :</b> Résultats des analyses physico-chimiques des matières premières.....	30
<b>Tableau VI :</b> Résultats de la capacité d'absorption d'eau et de l'huile.....	33
<b>Tableau VII :</b> Spectres polliniques et taux de pollens.....	39
<b>Tableau VIII :</b> Caractéristiques physico-chimiques (moyenne de 3 répétitions $\pm$ écart type) du biscuit témoin et des biscuits fortifiés par le pollen d'abeille .....	42

## **Liste des tableaux en annexes :**

<b>Tableau I :</b> Résultats des analyses microbiologique effectuée pour les 9 formulations de biscuits.....	(Annexe 08)
<b>Tableau II :</b> Résultats de l'analyse sensorielles des biscuits formulés.....	(Annexe 10)
<b>Tableau III :</b> Résultats d'analyses physico chimiques des farines (pois chiche et le riz) et de la poudre de pollen d'abeilles (de Guelma, Bejaia et de Djelfa).....	(Annexe 11)
<b>Tableau IV :</b> Résultats dévolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de pollen étudiés.....	(Annexe 11)
<b>Tableau V :</b> Résultats des IC <sub>50</sub> des extraits de pollen.....	(Annexe 11)

## Liste des figures :

<b>Figure 01</b> : Forme des grains de pollen .....	3
<b>Figure 02</b> : Illustration d'un grain de pollen avec ses diverses couches.....	4
<b>Figure 03</b> : diagramme de fabrication industrielle des biscuits secs .....	10
<b>Figure 04</b> : Étapes de formulation des biscuits .....	26
<b>Figure 05</b> : Teneur en lipides des échantillons analysés. ....	32
<b>Figure 06</b> : Teneur en sucres totaux des échantillons analysés.....	33
<b>Figure 07</b> : Rendement d'extraction.....	34
<b>Figure 08</b> : Teneur en protéines des échantillons analysés. ....	35
<b>Figure 09</b> : Teneur en composés phénoliques des échantillons de pollen étudiés .....	36
<b>Figure 10</b> : Teneur en composés phénoliques des farines étudiées.....	36
<b>Figure 11</b> : Teneur en flavonoïdes des échantillons analysés .....	37
<b>Figure 12</b> : Evolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de pollen étudiés.....	38
<b>Figure 13</b> : Rendement d'extraction des composés phénoliques. ....	43

## Liste des figures en annexes :

<b>Figure 01</b> : Préparation des farines .....	(Annexe 01)
<b>Figure 02</b> : Détermination de taux de cendres.....,	(Annexe 02)
<b>Figure 03</b> : Extraction des composés phénoliques du pollen d'abeille.....	(Annexe 02)
<b>Figure 04</b> : Extraction de la matière grasse des échantillons à l'aide d'un appareil de type soxhlet .....	(Annexe 02)
<b>Figure 05</b> : Observation sous microscope optique les échantillons de pollen.....	(Annexe 04)
<b>Figure 06</b> : Étapes de formulation des biscuits.....	(Annexe 05)
<b>Figure 07</b> : Biscuits formulés (la numérotation correspond au numéro de la recette de biscuit).....	(Annexe 05)

**Figure 08** : Analyses microbiologiques.....(Annexe 06)

**Figure 09** : Courbes d'étalonnage.....(Annexe 07)

## Liste des abréviations :

**pH** : Potentielle d'hydrogène

**MP** : Matière première

**MG** : Matière grasse

**CD** : Celiac disease : maladie céliaque

**IgE** : L'immunoglobulines E

**SNCG** : Sensibilité au gluten non céliaque

**GFD**: Gluten free disease: le regime sans gluten

**ES** : Extrait sec

**EBSA** : Équivalent bovine serum albumin

**EAG** : Équivalent acide gallique

**EQ** : Équivalent quercétine

**AlCl<sub>3</sub>** : Aluminum chloride

**ArOH** : Phénol

**IC<sub>50</sub>** : Demi-maximal de la concentration d'inhibition

**UFC** : Unité formatrice de colonie

**JORA** : Journal officiel de la République algérienne

**PCA** : plat count Agar

**EMB** : Eosin methylene blue

**OGA** : (Oxydtétracycline-Glucose-Yeast Extract Agar)

**SFB** : Bouillon au Sélénite cystéine de fer

# **Introduction**

Ces dernières années, il y a eu une augmentation du nombre de patients souffrant de maladies cœliaques, ce qui a également entraîné une demande croissante de produits sans gluten (**Lanata et al., 2022**). Le terme « sans gluten » est très populaire et est souvent associé à une alimentation optimale. Il est souvent négligé que l'élimination du gluten est principalement un traitement pour les maladies liées au gluten (**Greuter et al., 2020**).

Il est essentiel que les industries agroalimentaires améliorent la production sans gluten dans diverses filières en utilisant des ingrédients sans gluten, ou en substituant certains produits contenant du gluten par d'autres sans gluten : le remplacement de la farine de blé riche en gluten par la farine des légumineuses telles que les pois chiches, l'avoine, la fève, les céréales tel que le maïs est possible dans la fabrication des biscuits.

En général, les biscuits font partie de la deuxième transformation des céréales du blé tendre en boulangerie. Les biscuits ont de nombreuses formes fonctionnelles, enrichis en calcium, en fer et en vitamines et formulés pour les nourrissons, les enfants et les personnes âgées et pour ceux qui ont des besoins spéciaux (**Davidson, 2019b**). Ils sont consommés à tout moment de la journée et grâce à leur faible taux d'humidité, ils ont une durée de vie prolongée (**Lanata et al., 2022**). Sont fabriqués à partir des trois mêmes ingrédients fondamentaux : farine, sucre et matière grasse. Chaque recette est unique grâce à la grande diversité de recettes disponibles (**Lalliance, 2018**). Ces éléments sont perçus comme nocifs par les consommateurs, ce qui a conduit à de nombreuses études réalisées au cours des dernières décennies pour améliorer la qualité nutritionnelle des biscuits (**Areppally et al., 2020**).

De plus, le fort intérêt des consommateurs pour les aliments sains qui contribuent à prévenir ou à diminuer le risque de maladies chroniques liées à l'alimentation a entraîné une augmentation de la tendance à créer de nouvelles formulations saines de biscuits (**Lanata et al., 2022**).

L'incorporation de pollen dans une matrice alimentaire a souvent pour effet d'améliorer les qualités nutritionnelles, fonctionnelles, technologiques et sensorielles des produits alimentaires inédits (**Krystyjan et al., 2015**). Les caractéristiques physiques, fonctionnelles, thermiques et texturales du pollen influencent ce potentiel d'amélioration (**Conte et al., 2018**).

Une telle mesure pourrait grandement améliorer la qualité des biscuits sans gluten qui sont souvent fades, désagréables, peu variés ou non disponible à l'échelle locale et nationale. Ceci permettra d'étendre la gamme de biscuits favorisant la santé essentiellement pour les

personnes atteintes de maladie cœliaque et élargir les différentes utilisations du pollen qui est une source fiable de substances bioactives et d'énergie.

Les abeilles de miel (*Apis Mellifera*) recueillent le pollen des plantes et l'entreposent sur leurs pattes arrière, l'enrichissant d'enzymes salivaires pour produire des grains microscopiques granulaires connus sous le nom de "pollen d'abeille" appelé aussi : pollen de l'apiculture, pollen corbiculaire ou pollen collecté par les abeilles (**Fuenmayor *et al.*, 2014**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de ce travail qui a été d'une part élaborer des biscuits sans gluten en optant pour des ingrédients qui peuvent s'agréger puis d'améliorer la qualité nutritionnelle et gustative des biscuits en incorporant du pollen d'abeille avant de déterminer les caractéristiques physico chimiques, microbiologiques et sensorielles.

Trois parties distinctes constituent ce projet : une synthèse bibliographique qui présente les généralités sur le pollen d'abeille et des biscuits, produits sans gluten ; une partie pratique qui décrit les diverses analyses de la matière première utilisée (le Pollen d'abeille, pois chiche, farine de riz), la formulation du biscuit et les différentes analyses effectuées sur ce dernier ; la dernière partie englobe les résultats obtenus et leur interprétation.

# **Synthèse bibliographique**



## I- Généralités sur le pollen d'abeille.

### I-1- Définition du pollen

Les abeilles rassemblent le pollen et le transportent vers la crèche, et les grains de pollen sont désignées sous le nom de pollen d'abeille (**Kieliszek *et al.*, 2018**).

Le pollen est généré par les plantes en utilisant des cellules mâles pour la pollinisation et la production de fruits. En ce qui concerne la forme, la taille et la couleur du pollen, chaque espèce végétale présente ses propres particularités (**Almeida-Muradian *et al.*, 2005**).

Le pollen d'abeille est un composé de poudre de pollen provenant des fleurs et d'enzymes digestives provenant des abeilles ouvrières. Ces enzymes sont collectées sur leurs pattes et transportées jusqu'à l'exosquelette externe (cuticule). Par conséquent, il renferme des grains de fleur, des enzymes apicoles et des sucres de nectar (**HariffFadzilah *et al.*, 2017**).

### I-2- Structure et forme du pollen

Les Grains ont différentes formes : ronde, circulaire, en forme de cloche, triangulaire ou tordue (figure 01) (**Shubharan *et al.*, 2013**).

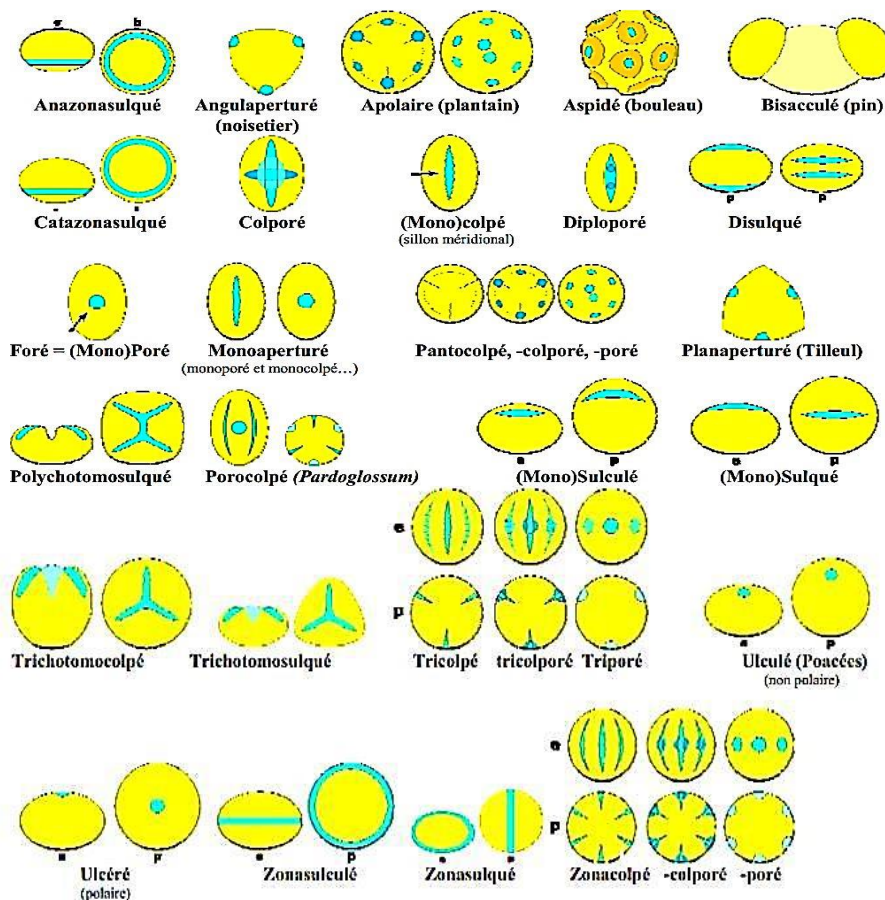
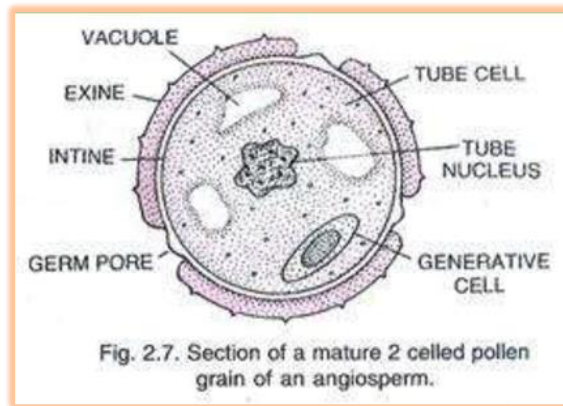


Figure 01 : Forme des grains de pollen (Lezine, 2011).

Les grains de pollen sont généralement limités par les membranes cytoplasmiques, la paroi cellulosique, l'intine, et la paroi spéciale, l'exine (figure 02). L'intérieur contient un cytoplasme contenant deux noyaux, végétatif et reproducteur, et des réserves pour la germination, très humides et aqueuses (Misset *et al.*, 1989).



**Figure 02** : : Illustration d'un grain de pollen avec ses diverses couches (laaidi *et al.* 1997).

On distingue deux catégories de pollen d'abeille en fonction de sa source florale : monoflorale (le taxon principal ne doit pas être inférieur à 80%) et polyflorale (qui renferme du pollen a plus d'un taxon végétal) (Campos *et al.*, 2008).

### I-3- Composition chimique et valeur nutritionnelle

#### I-3-1- Composition chimique

Les composés chimiques (Tableau I) du pollen d'abeille incluent des protéines, des acides aminés, des glucides, des lipides, des acides gras, des composés phénoliques, des enzymes, des vitamines et des minéraux (Rzepecka-Stojko *et al.*, 2015).

**Tableau I** : Composition chimique (g/ 100g) d'un échantillon de pollen d'abeille (Bogdanov, 2006).

Les composants	Apport pour 100 g de pollen d'abeille
<b>Glucides</b>	13-55
<b>Protéines</b>	10-40
<b>Graisses</b>	1-10
<b>Fibres alimentaires</b>	0,3-20
<b>Vitamines</b>	0,02-1
<b>Glycosides</b>	0,4- 3
<b>Flavonoïdes</b>	0,1
<b>Matière minérale</b>	0,5- 3

Le pollen renferme des vitamines liposolubles comme la provitamine A, la vitamine E et la vitamine D, ainsi que des vitamines hydrosolubles comme B10 (1%), B2 (0,6%) et C (**Komosinska-Vassev et al., 2015**).

Le pollen des abeilles contient environ 1,6% de minéraux, comprenant à la fois des macro et microéléments tels que le calcium, le magnésium, le sodium, le phosphore et le potassium, ainsi que du fer, du zinc, du manganèse et du sélénium (**Altunatmaz et al., 2017**).

### **I-3-2- Valeur nutritionnelle**

On considère le pollen d'abeille comme l'un des plus anciens compléments nutritionnels de tous les temps, contenant presque tous les éléments nutritifs nécessaires à un régime alimentaire (**Morais et al., 2011**). Le taux de ces substances dans le pollen d'abeille est principalement influencé par des facteurs tels que le type de sol, les conditions météorologiques et la race des abeilles, qui diffèrent en fonction de l'origine végétale et de l'origine géographique (**Araújo et al., 2017 ; Mayda et al., 2020**).

Son activité antioxydante est également élevée en raison de la présence de polyphénols et de flavonoïdes (**Harif Fadzilah et al., 2017**).

En effet, le pollen des abeilles contient en moyenne 1,6 % de phénols. La composition des composés phénoliques comprend des flavonoïdes, des leucotriènes, des catéchines et des acides phénoliques. Le pollen d'abeille contient 1,4% de flavonoïdes, principalement composés de kaempferol, de quercétine et d'isorhamnetine. L'acide chlorogénique occupe la première place parmi les acides phénoliques et est présent à un taux de 0,2% (**Komosinska-Vassev et al., 2015**).

### **I-4- Propriétés thérapeutiques**

Le pollen d'abeille est employé en médecine alternative et complémentaire afin de traiter la prostatite, les ulcères d'estomac, les maladies infectieuses, ainsi que pour prévenir et traiter le syndrome de la maladie à haute altitude (**Linskens et Jorde, 1997**).

Le pollen présente de multiples vertus médicinales, comme ses propriétés antimicrobiennes, antitumorales, antibactériennes, immunomodulatrices, anti-inflammatoires et nutritionnelles car il est riche en composés phytochimiques tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les caroténoïdes (**Cornara et al., 2017**).

**I-4-1- Antioxydante**

L'activité antioxydante de pollen est basée sur son pouvoir de capturer les radicaux libres et d'inhiber la peroxydation lipidique (**Fatrcová-Šramková et al., 2013**).

**I-4-2- Anti- angiogénique anti-carcinogénique**

Le pollen possède une action angiostatique, ce qui pourrait le rendre un agent thérapeutique prometteur dans le traitement et la prévention des maladies liées à l'angiogénie (**Izuta et al., 2009**).

Différentes recherches ont démontré la capacité du pollen d'abeille à agir comme anticancéreux, probablement liée à des propriétés antioxydantes et antimutagènes (Denisow et Denisow-Pietrzyk, 2016).

**I-4-3- Anti-inflammatoire**

L'action anti-inflammatoire de pollen se produit en bloquant l'action de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase, les enzymes qui transforment l'acide arachidonique en composés toxiques tels que la prostaglandine et les leucotriènes, ce qui entraîne des inflammations aiguës et chroniques dans les tissus. Les flavonoïdes et les acides phénoliques, ainsi que les acides gras et les phytostérols, sont responsables (**Choi, 2007**).

**I-4-4- Antimicrobien et antifongique**

Les propriétés antimicrobiennes du pollen d'abeille peuvent être causées par l'activité de glucose oxydase, qui est produite par la sécrétion des abeilles, tandis que les phénoliques et les flavonoïdes pourraient également être impliqués (Denisow et Denisow-Pietrzyk, 2016 ; **Fatrcová-Šramková et al., 2016**).

**I-3-5- Activités antidiabétiques**

Des études menées par Ghoshal et Saoji (2013) ont révélé la présence de substances antidiabétiques dans les grains de pollen, comme les stéroïdes et les alcaloïdes, les flavonoïdes, les flavanols, les stérols, les alcaloïdes et les tannins. Cela suggère des utilisations potentielles du pollen d'abeille en tant qu'agent hypoglycémiant.

**I-4-6- Activité immunomodulatrice**

Plusieurs éléments contribuent à l'activité immunostimulante du pollen. D'abord, il a été prouvé que les particules polysaccharidiques provenant du pollen ont la capacité de stimuler l'activité immunitaire en stimulant l'activité des macrophages (**Morais et al., 2011**).

## II- Généralités sur les biscuits.

### II-1- Historique et définition des biscuits

Les Romains, les Perses et les Égyptiens, qui utilisaient tous des pains cuits deux fois pour prolonger leur durée de conservation, ont débuté avec des aliments qui pourraient être considérés comme les premières formes de biscuits vers 2500 avant JC (**Davidson, 2019**).

Le terme "biscuit" provient du latin "bis coctus" qui signifie "deux fois cuit" (**Chavan et al., 2016**). La première cuisson permet de cuire le biscuit, tandis que la seconde élimine l'humidité restante, ce qui était crucial pour leur conservation, car l'humidité risquerait de les détériorer, dans les temps anciens, ce procédé était permis aux marins, aux soldats et aux voyageurs de transporter les aliments qui ne s'abîmeraient pas sur de longues distances (**Manley, 2011 ;Davidson, 2019**).

Les biscuits possèdent une histoire assez riche et vaste. Les biscuits, tel que nous les connaissons aujourd'hui, ont émergé à partir d'aliments anciens préparés par différentes origines humaines (**Davidson, 2019**). C'est une spécialité de la boulangerie qui attire les consommateurs de tous âges en raison de leur goût délicieux, de leur grande diversité, de leur stabilité et de leur praticité (**Abd-Elmegaly et al., 2022**).

### II-2- Classification des biscuits

Il y a une grande variété de biscuits et de gâteaux, allant des recettes traditionnelles qui sont strictement respectées par un code d'usage, aux recettes plus récentes qui se concentrent soit sur une dimension volontairement gourmande, soit sur des avantages nutritionnels spécifiques, sans oublier avant tout le plaisir (**Denis, 2011**).

Quatre catégories de biscuits sont classées en fonction de leurs recettes et processus :

- Les craquelins ;
- Les biscuits durs, sucrés et mi-sucrés ;
- Les biscuits à pâte brisée ;
- Les cookies, y compris les cookies remplis.

### II-3- Ingrédients de biscuit et leurs rôles

La recette du biscuit se compose d'ingrédients majeurs et mineurs. La farine, la graisse ou l'huile, le sucre, l'eau, les agents levants chimiques (bicarbonate de sodium, bicarbonate d'ammonium) sont les principaux ingrédients essentiels tandis que le sel, les œufs, les

émulsifiants, la poudre de lait et les composés aromatisants servent d'ingrédients mineurs facultatif (Mancebo *et al.*, 2015).

➤ **Farine**

L'ingrédient principal de tous les biscuits est la farine de blé tendre (Mamat et Hill, 2018). Elle est chargée de l'assemblage final du produit. Elle est largement utilisée en raison de la capacité de la pâte à retenir le gaz, ce qui lui permet de s'étendre lors de la cuisson (Gan *et al.*, 1995).

➤ **Matière grasse**

La matière grasse (beurre ou huile) joue un rôle dans l'amélioration de la plasticité de la pâte, en stabilisant les alvéoles formées lors du pétrissage des ingrédients et en influençant le niveau de texture de la pâte finale, ce qui rend la dégustation plus agréable et uniforme (Mieszkowska et Marzec, 2015).

➤ **Œuf**

Les œufs entiers ou seulement les blancs sont utilisés en fonction du type de biscuit. Les biscuits à faible teneur en matières grasses sont composés d'œufs entiers ou de jaune d'œufs. L'utilisation des œufs permet d'aérer et de coaguler les biscuits lors de leur préparation (Hui *et al.*, 2007).

➤ **Eau ou le lait, la poudre de lait entier**

Pendant le mélange, l'eau hydrate la protéine du gluten, gélatine l'amidon et sert de solvant pour les solutés et de dispersion pour les autres ingrédients (Ahmad et Ahmed, 2014). Dans certaines recettes de biscuit, on peut substituer l'eau par du lait. Il permet de mouiller et d'améliorer la structure et la texture de la pâte, améliorant ainsi la saveur des biscuits. De plus, il contribue à la coloration de la croûte grâce à la réaction de Maillard (Mezian, 2011). Le lait en poudre entier est utilisé dans la fabrication de biscuits en raison de sa durée de conservation prolongée et de sa qualité constante par rapport au lait frais et à d'autres formes de lait (Ahmad et Ahmed, 2014).

➤ **Matière sucrante**

Le sucre joue un rôle essentiel dans le comportement de la pâte lors de la production des biscuits. Lorsqu'il est trop riche en sucre, la pâte se ramollit, en partie en raison de la compétition entre le sucre ajouté et la disponibilité de l'eau dans le système (Bure, 1980).

### ➤ Sel

La présence de sel a une influence importante sur la quantité d'eau dans le biscuit final, la microstructure et les inclusions d'air dans les biscuits (**Ayed et al., 2021**).

### ➤ Additifs alimentaires

Les additifs alimentaires sont employés afin d'améliorer la durabilité des aliments préparés et de leur conférer une structure et une consistance spécifiques. On retrouve : les substances édulcorantes, colorants, conservateurs, antioxydants, agents texturants, acidifiants, exhausteurs de goût (**Gaouar et al., 2022**).

### ➤ Aromatisants

La fonction des aromatisants est généralement remplie par le beurre et le lait, ainsi que par certains épices tels que la cannelle, la noix et le gingembre, qui sont utilisés pour améliorer la saveur. Il est important d'utiliser ces aromatisants avec précaution, car un léger excès de quantité donne une saveur très forte qui devient désagréable et inacceptable pour le produit (**Khatkar, 2017**).

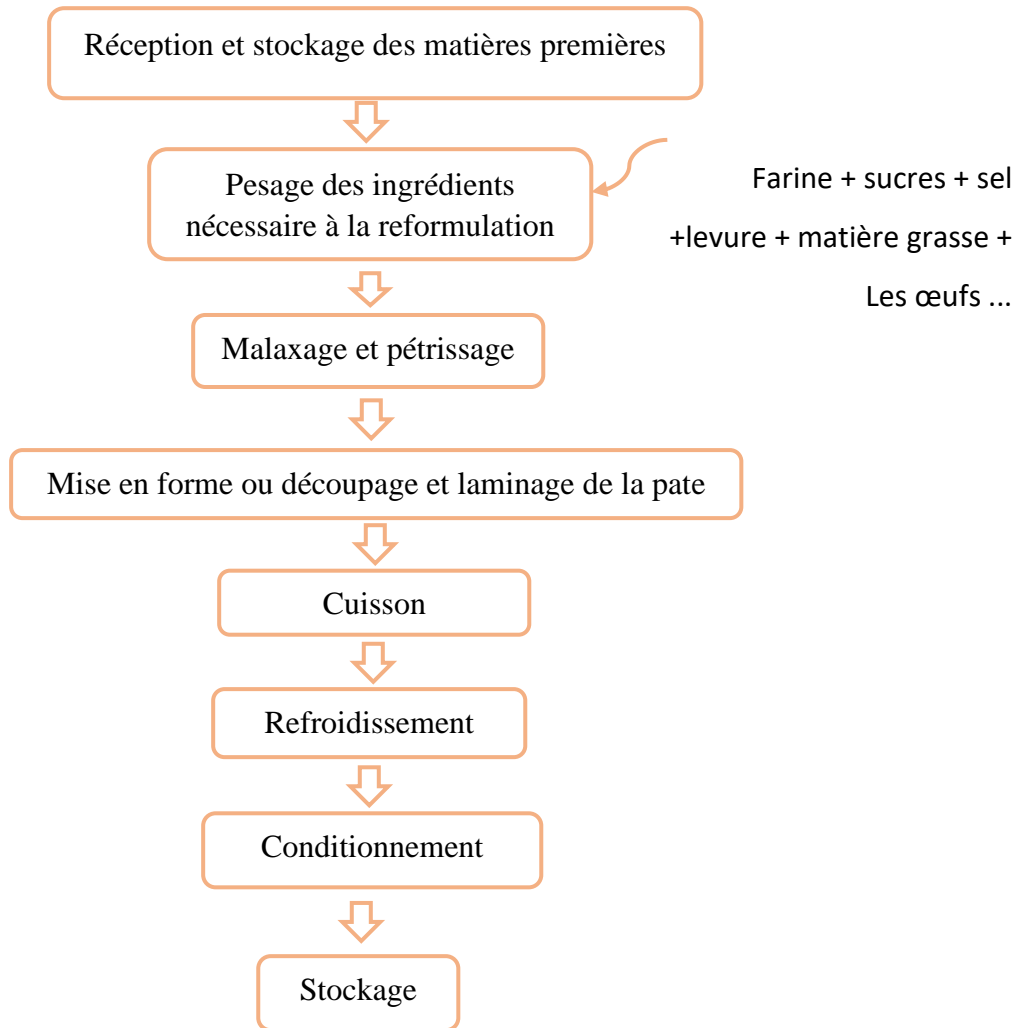
### ➤ Agents d'améliorations

Un améliorant a la capacité d'aider la pâte à se lever (activer la fermentation), de l'assouplir, d'augmenter sa force, de lui donner une couleur plus éclatante ou d'inhiber les microorganismes (**Mezian, 2011 ; Ndangui, 2015**).

## II-4- Procédé industrielle de fabrication

Le mélange, le formage et la cuisson de chaque catégorie et type de biscuit requièrent un processus spécifique (**Davidson, 2019**).

Le diagramme de production illustré dans la Figure 03 offre une vue d'ensemble des étapes à suivre pour produire des biscuits secs au niveau industriel.



**Figure 03 :** Diagramme de fabrication industrielle des biscuits secs (Davidson, 2019).



### III- Généralités sur les produits sans gluten.

#### III-1- Définition du gluten

Le gluten est une partie des protéines de blé soluble dans l'alcool, qui est consommée en quantités importantes (10–20 g/j) avec une alimentation normale. Il est présent dans les céréales tels que le blé, le seigle et l'orge (**Greuter et al., 2020**). C'est une substance protéique complexe qui joue un rôle crucial dans la fabrication de produits de boulangerie tels que le pain et les gâteaux, en raison de ses facultés viscoélastiques (**Boukid, 2021 ;Mefleh, 2021**)

Le gluten est un élément extrêmement complexe, se distinguant par un polymorphisme allélique élevé qui génère ses propres protéines, la glutamine et la gliadine. Il existe des protéines de stockage similaires telles que le sécaline, l'hordéine présent dans l'orge et l'avénine présent dans l'avoine, également connues sous le nom de « gluten » (**Biesiekierski, 2017**).

#### III-2- Produits sans gluten

Les aliments diététiques sans gluten sont des produits alimentaires contenant uniquement un ou plusieurs ingrédients. Ces produits ne renferment aucun blé ou ne sont produits qu'à partir d'un ou plusieurs ingrédients dérivés du blé qui ont été spécialement traités pour éliminer le gluten et dont la teneur en gluten n'est pas supérieure à 20 mg/kg au total (**Allouch et al., 2022**).

Quelques farines ont été substituées dans la fabrication des biscuits :

##### III-2-1 Les céréales

###### ➤ Farine de millet

Le millet fait référence à neuf variétés différentes, toutes étant des herbes à petits grains et annuelles de céréales (**Nani et al., 2015**). Il joue un rôle essentiel dans différents aliments et boissons traditionnels tels que le pain et les porridges, et il constitue également une importante source de glucides et de protéines, ainsi que d'autres phyto-nutriments essentiels (**Habiyaremye et al., 2017**). De plus, la présence de  $\beta$ -carotène, de vitamine C, de zinc, de calcium, de sodium et de potassium dans le millet est faible (**Queroz, 1991**).

➤ **Farine de teff**

Eragrostis tef est une espèce de plante à fleurs monocotylédones de la famille des Poacées. La farine de teff contient des quantités importantes de glucides (66,7 %) et de fibres (9,6 %) (Zhu, 2018). Et d'acides aminés essentiels (Abebe *et al.*, 2015)

➤ **Farine de riz**

Le riz est peu riche en prolamines, hypoallergénique, doux, peu riche en sodium et riche en glucides digestibles, ce qui le rend acceptable pour les régimes cœliaques (Phimolsiripol *et al.*, 2012). Il renferme une importante quantité de nutriments supplémentaires, tels que le phosphore, les protéines, le calcium, le magnésium, le potassium, le fer, le zinc, le cuivre, le manganèse, la thiamine, la niacine et la riboflavine (Motawei *et al.*, 2022).

➤ **Farine d'avoine**

L'avoine est une céréale de la famille des Poacées. Son profil nutritionnel est avantageux en raison de sa concentration assez élevée en protéines, en fibres, en vitamine B et en minéraux (Sterna *et al.*, 2016). En ajoutant le teff et l'avoine à la recette, il serait possible d'améliorer la valeur nutritionnelle des produits de boulangerie sans gluten (Inglett *et al.*, 2016).

➤ **Farine de sorgho**

Le Sorgho contient une grande quantité d'amide, suivie de protéines, de glucides non amide et de graisses (Jacob *et al.*, 2013). La farine de sorgho étant dépourvue de gluten, pourrait être associée au grain de blé afin de fabriquer des biscuits de qualité supérieure utilisables par les patients atteints de cœliaque (Rai *et al.*, 2014).

➤ **Farine de quinoa**

La farine de quinoa est aussi un ingrédient alternatif riche en nutriments et nutritif pour la création de produits fonctionnels sans gluten, car elle est naturellement dépourvue de gluten (Motawei *et al.*, 2022). Les fibres alimentaires du quinoa représentent 13,4 %, dont 11,0 % de fibres insolubles et 2,4 % de fibres solubles. Le quinoa renferme 4,4-8,8 % de graisse brute. Les acides gras essentiels, tels que les acides linoléiques et linoléiques, représentent 55 à 63 % du total des acides gras (Alvarez-Jubete *et al.*, 2009). Il y a une grande quantité de vitamines (riboflavin, tocophérol et acide ascorbique), de minéraux et de molécules antioxydantes (Siyuan *et al.*, 2018 ; Conte *et al.*, 2019) .

➤ **Farine de maïs**

Le maïs est une céréale sans gluten qui a la capacité de contrôler les niveaux de sucre dans le sang. Par conséquent, les produits transformés à partir de maïs devraient diminuer le taux de glucose (Asmarani *et al.*, 2015). Les avantages du maïs et de certains grains entiers sont bien établis grâce à certains macronutriments tels que les glucides, les vitamines et les minéraux et les acides phénoliques (Siyuan *et al.*, 2018). Le principal atout de la farine de maïs en tant qu'aliment est sa teneur en fibres alimentaires supérieure à celle des farines de blé (Behera et Srivastav, 2018).

### III-2-2- Les légumineuses

➤ **Farine de pois chiche**

Le pois chiche est une espèce de légumineuses appartenant à la famille des Fabacées. Le pois chiche contient une grande quantité de protéines, d'acides gras insaturés, de minéraux et de bêta-carotène abondants (Arooj *et al.*, 2021). La présence de fibres solubles contribue à diminuer les lipoprotéines de faible densité ou le mauvais cholestérol. On retrouve le manganèse, le magnésium, le zinc, le fer, le cuivre ainsi que les vitamines telles que la thiamine et la vitamine B6. Ils contiennent une grande quantité d'acides aminés essentiels tels que la leucine, l'acide aspartique, la lysine, le glutamate et l'arginine, et leur association avec les céréales permet d'obtenir des profils d'acides aminés essentiels bien équilibrés (Mohammed *et al.*, 2014).

➤ **Farine de fève**

L'haricot commun (*Phaseolus vulgaris*) présente une teneur en matières grasses faible et une richesse en protéines, vitamines, glucides complexes et minéraux. Les haricots secs ont été associés à une réduction du risque de diabète et d'obésité (Geil et Anderson, 1994). On a rapporté que les haricots communs sont une excellente source de polyphénols qui ont des propriétés antioxydantes et anti carcinogènes (Gamez *et al.*, 1998).

### III-2-3- Autres graines

➤ **Farine de chia**

Le chia est une espèce de plantes de la famille des Labiatae, de la catégorie *Salvia*. Les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles de la graine de chia suscitent un vif intérêt dans les secteurs alimentaires ou pharmaceutiques (Muñoz *et al.*, 2013). L'étude de Lucini Mas et al. (2020) ont examiné l'effet de la farine de chia sur l'amélioration de la qualité antioxydante des

biscuits, et ont examiné comment la farine de chia peut être modifiée afin d'améliorer la qualité antioxydante, les caractéristiques technologiques et sensorielles en augmentant la quantité de polyphénols incorporés.

➤ **Farine de lin**

Masoodi (2012) a constaté que la présence de graines de lin fortifiant les biscuits en augmentant progressivement l'humidité, la graisse, les cendres et les protéines, les fibres alimentaires a montré une augmentation rapide, alors que la teneur en glucides a diminué et l'augmentation de la fortification a entraîné une augmentation linéaire de l'activité antioxydante et de la concentration phénolique.

### III-2-4- Les fruits

➤ **Farine de gland**

Les glands, ont joué un rôle essentiel dans les régimes traditionnels des individus à travers le monde et sont évoquées pour leurs avantages potentiels pour la santé (**Polimac et al., 2015**).

La farine de gland est recommandée d'un point de vue nutritionnel en raison de sa teneur en graisse (dont plus de 80% est insaturée), en protéines et en électrolytes (calcium, magnésium, potassium et phosphore), mais elle contient peu ou pas de sodium, et elle est riche en fer, cuivre et zinc (Polimac et Komlenić, 2015).

➤ **Farine de châtaigne**

Le fruit du châtaignier, qui fait partie de la famille des Fagacées, contient des protéines de haute qualité avec des acides aminés essentiels, une teneur élevée en sucre, en amidon, en fibres comestibles et un faible teneur en lipides dans les graminées, principalement insaturées (**Dall'Asta et al., 2013**).

Paciulli et al. (2018) ont constaté que l'ajout de farine de châtaignier à des niveaux élevés (0,8 % et 1 %) a entraîné une augmentation significative de la dureté des biscuits, tandis qu'un remplacement de 0,5 % de farine peut être considéré comme le meilleur compromis entre la qualité et la stabilité.

➤ **Farine de noix de coco**

Le coco, qui provient de la palme de noix de coco, offre une abondance de vitamines, de minéraux et de protéines. Il présente des avantages nutritionnels tels que la diminution du

saccharose, l'amélioration de la digestion, le renforcement du système immunitaire, l'amélioration du système immunitaire et un faible indice glycémique, ce qui en fait un choix bénéfique pour les patients atteints de diabète et la santé cardiaque(DebMandal et Mandal, 2011).

➤ **Farine de caroube**

Le caroube (*Ceratonia siliqua* L.) font partie de la famille des Fabacées. La farine de caroube contient une grande quantité de pectine, de fibres solubles de qualité supérieure et de sucres, en plus de ses attributs d'épaississement. Cette farine constitue une option idéale pour fabriquer de la pâte viscoélastique et du pain sans gluten de qualité supérieure (**Smith et al., 2012**).

### **III-3- Maladies liées au gluten**

Trois types de troubles humains peuvent être associés à l'intolérance au gluten : la maladie cœliaque auto-immune (CD), l'allergie au blé et la sensibilité au gluten non cœliaque (NCGS)(Balakireva et Zamyatnin, 2016).

#### **III-3-1- Maladie cœliaque**

Le rôle du gluten dans la maladie cœliaque (CD) est très négatif. 1% de la population est touchée par cette maladie auto-immune qui entraîne une inflammation réversible dans la muqueuse du petit intestin, entraînant des symptômes aigus tels que la diarrhée, la constipation, les ballonnements, les nausées et les vomissements survenant (**Moreno et al., 2017 ;Caio et al., 2019**)

Diverses séquences des gliadines  $\alpha$ ,  $\gamma$  et  $\omega$ , ainsi que des glutamines, ont été repérées pour être responsables de l'activation de la maladie cœliaque (**Biesiekierski, 2017**).

#### **III-3-2- Allergie au blé**

L'allergie au blé se produit lorsque l'IgE réagit aux gliadines insolubles présentes dans le blé. En règle générale, les symptômes se manifestent dans les minutes à des heures suivant l'ingestion et incluent des démangeaisons et des gonflements, des éruptions cutanées et une anaphylaxie fatale. L'asthme du boulanger et la rhinite (du blé inhalé), la dermatite atopique (contact avec la peau), l'urticaire ou l'anaphylaxie après consommation du blé avant une activité sportive intense peuvent être des symptômes (**Kucek et al., 2015**).

### III-3-3- Sensibilité au gluten non cœliaque

Il n'y a pas de données précises sur la prévalence de la sensibilité au gluten non cœliaque, mais on estime qu'elle est considérablement très fréquente que la maladie cœliaque. Les symptômes gastro-intestinaux sont causés par l'ingestion de gluten, la différence de la maladie cœliaque elle ne présente pas d'anticorps spécifiques et ne cause pas de villosité. On ne sait pas encore quel est le contexte génétique de la maladie (Wilhelmi et al., 2014 ; Greuter et al., 2020).

Les symptômes gastro-intestinaux des patients qui ils ont la sensibilité au gluten non cœliaque sont similaires à ceux de la maladie cœliaque, tels que des douleurs abdominales, des maux de ventre et de la diarrhée, qui surviennent quelques heures ou jours après avoir consommé ou bu des boissons contenant du gluten. D'autres signes non liés au système digestif incluent des modifications du comportement, des douleurs musculosquelettiques, des difficultés de sensibilité, une diminution du poids et une fatigue persistante (**Greuter et al., 2020**).

# **Partie expérimentale**

# **Matériel et méthodes**



## I-1- Matériel végétal

Pour élaborer nos biscuits enrichis en pollen d'abeille, nous avons utilisé des farines sans gluten ; farine de riz (une céréale) et farine de pois chiche (légumineuse).

### ➤ Le pollen d'abeille

Trois échantillons de pollen provenant de la récolte de 2023 ont été collectés dans les régions de Bejaia (monofloraux), Guelma (polyfloraux) et Djelfa (monofloraux), afin de sélectionner le plus riche en protéines et en composés phénoliques.

### ➤ Le riz

L'origine du riz utilisé pour la fabrication des biscuits est le riz long étuvé, qui est acheté dans le commerce c'est un riz importé par la société LABELLE. Il est d'origine vietnamienne de variété inconnue.

### ➤ Le pois chiche

Un échantillon de pois chiche de la récolte de 2022 a été obtenu chez un agriculteur de la région de Seddouk Wilaya de Bejaia. Il s'agit de la variété *Kabuli*, qui présente une teinte crème clair et est recouverte d'un tégument fin et lisse.

## I-1-1- Préparation des matières premières

Les échantillons de pois chiche, de riz et de pollen qui représentent nos matières premières (MP) principales sont d'abord triés, broyés, tamisés pour obtenir des farines et des poudres de même calibre avant de les conserver dans des pots (figure 01, annexe 01) jusqu'à l'analyse et l'élaboration des biscuits.

## I-2- Analyses physico-chimiques

### I-2-1- pH

#### Principe

Le pH est mesuré par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH- mètre.

#### Mode opératoire

3g d'échantillon à analyser sont dissous dans 10 ml d'eau distillée. La sonde du pH-mètre est ensuite introduite dans cette solution, avant de lire les valeurs affichées (**Laaroussi et al., 2023**).

### I-2-2- Taux d'humidité

#### Principe

Le taux d'humidité des produits est calculé en les séchant dans une étuve à 105°C jusqu'à obtenir un poids constant.

#### Mode opératoire

2 g de produit à analyser sont introduits dans un creuset taré dont la masse est notée ; on l'introduit ensuite dans une étuve chauffée à 105 °C, jusqu'à poids constant, ensuite on prend note de la masse du creuset après séchage (Laaroussi *et al.*, 2023).

#### Expression des résultats

Les résultats sont exprimés comme suit :

$$\text{Humidité (\%)} = (\text{Poids d'échantillon} - \text{poids d'échantillon sec}) / (\text{Poids d'échantillon}) \times 100$$

### I-2-3- Taux de cendres

#### Principe

Le taux des cendres permet de déterminer la quantité de matières minérales inorganiques d'un échantillon, par l'incinération dans le four à moufle 550 °C.

#### Mode opératoire

Les creusets en porcelaine vides sont pesés, puis 2 g de la poudre de pollen sont ajoutés dans une capsule en porcelaine. On les place dans un four à moufle à 550°C jusqu'à l'obtention d'une poudre blanche avec un poids stable. Ensuite, ils sont pesés (Asmae *et al.*, 2021).

#### Expression des résultats

Les résultats sont exprimés comme suit :

$$\text{Taux des cendres (\%)} = (\text{Poids des cendres}) / (\text{Poids d'échantillon}) \times 100$$

#### I-2-4- Teneur en lipides

##### Principe

Les lipides sont extraits de manière continue à l'aide d'un solvant organique dans un extracteur Soxhlet.

##### Mode opératoire

L'échantillon sec est déposé dans une cartouche en cellulose avant de l'introduire dans l'extracteur Soxhlet. L'extraction est réalisée après addition de l'hexane dans le ballon chauffé à 60°C pendant 6 h. Une fois l'extraction terminée, le ballon est séché puis pesé pour déterminer le taux de MG (AOAC, 2000).

##### Expression des résultats

On calcule la teneur en matière grasse comme suite :

$$MG (\%) = (W2 - W1) / S \times 100$$

Où :

MG : matière grasse (g/100 g) ;

W1 : poids de la fiole vide (g) ;

W2 : poids de la fiole et de la graisse extraite (g) ;

S : poids de l'échantillon (g).

#### I-2-5- Dosage des caroténoïdes

##### Principe

Selon **Rodriguez-Amaya (2001)**, les caroténoïdes possèdent plusieurs doubles liaisons qui sont combinées dans leur structure, ce qui leur permet d'être absorbées dans la lumière en excitant les électrons des liaisons.

##### Mode opératoire

Un échantillon d'une masse de 1 g est placé dans 10 ml d'un mélange de solvants : hexane : acétone : éthanol (1:1:1), Après macération pendant 15 minutes, le mélange est centrifugé à 4000 rpm/ 20. L'absorbance de la phase hexanique récupérée est mesurée à une longueur d'onde de 430 nm (**Sass-Kiss et al., 2005**).

### Expression des résultats

On estime la concentration en caroténoïdes en se basant sur la courbe d'étalonnage (Annexe 07) qui a été réalisée simultanément dans les mêmes conditions opératoires avec des concentrations différentes de  $\beta$ -carotène (0 à 1000 mg/ml).

### I-2-6- Dosage des sucres totaux

#### Principe

La méthode de dosage des sucres à l'antrone permet de quantifier tous les oses, diosides et polysaccharides (**Dreywood, 1946**). La réaction de l'antrone dans un milieu à haute concentration en soufre permet de mettre en évidence les composés glucidiques. Cela entraîne la formation d'un complexe de couleur bleue qui absorbe à une longueur d'onde de 630 nm.

#### Mode opératoire

0.5 ml de la solution de carrez I et de carrez II sont ajoutés à 0.5 g d'échantillon pour une défécation de l'échantillon à analyser, avant d'ajuster à 25 ml avec de l'eau distillée et de filtrer. Après, 2 ml d'antrone (0.2 %) sont ajoutés à 1 ml de filtrat. Les tubes ont été incubés au bain-marie (100°C) pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 620 nm (**Dreywood, 1946**).

#### Expression des résultats

La concentration en sucres est estimée en utilisant la courbe d'étalonnage (Annexe 07) effectuée en même temps dans les mêmes conditions opératoires avec des concentrations différentes de glucose (1 mg/g).

### I-2-7- Capacité d'absorption de l'eau et de l'huile

#### Principe

La capacité d'absorption d'eau (CAE) représente la quantité maximale d'eau qu'un aliment absorbe et conserve (**Marero et al., 1988**). La capacité à absorber l'huile (CAH) joue un rôle crucial dans la préservation des aliments car elle prévient le processus de rancissement oxydatif (**Siddiq et al., 2010**).

#### Mode opératoire

La méthode utilisée est basée sur celle décrite par **Yapi et al. (2021)**. Pour la capacité d'absorption de l'eau (CAE) et la capacité d'absorption de l'huile (CAH) : Une prise d'essai

de 1 g (CAE) et 0.5 g (CAH) d'échantillon est pesée dans un tube de centrifugation (me), et 10 ml d'eau sont ajoutés avant de mélanger pendant 30 minutes. Les tubes sont centrifugés à 5000 tr/min pendant 25 min, on mesure ensuite les nouvelles masses de l'échantillon qui reste dans les tubes (me') pour (CAE) et (me'') pour (CAH) après avoir écarté le surnageant.

### Expression des résultats

La capacité d'absorption d'eau de chaque échantillon est calculée en utilisant la formule :

$$CAE(g/g) = (me' - me) - PE/PE$$

La capacité d'absorption d'huile de chaque échantillon est calculée en utilisant la formule :

$$CAH (g/g) = (me'' - me) - PE/PE$$

Avec :

me : masse du tube contenant la farine avant centrifugation ;

me' et me'' : nouvelle masse du tube contenant l'échantillon après centrifugation ;

PE : prise d'essai.

### I-2-8- Extraction des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont extraits avec de l'éthanol aqueux selon la méthode d'extraction par épuisement liquide-solide, décrite par **Turkmen et al. (2006)**. 0.5 g de poudre d'échantillon à analyser sont macérés dans 10 ml d'éthanol 70 % pendant une heure, sous agitation à température ambiante, puis centrifugé à 3000 rpm/10 mn. Le culot obtenu subit une deuxième extraction avec le même solvant. Les deux surnageants sont mélangés, filtrés sous vide et le solvant est ensuite évaporé.

### I-2-9- Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est déterminé en utilisant la formule suivante :

$$R (\%) = (Me \times 100 / M \text{ éch})$$

Où :

R (%) : rendement en % ;

Me : masse de l'extrait après évaporation du solvant en g ;

M éch : masse sèche de l'échantillon en g (**Mahmoudi, 2013**).

## I-2-10- Dosage des protéines

### Principe

La méthode de Bradford consiste en une analyse spectroscopique qui permet de quantifier les protéines dans une solution.

### Mode opératoire

20  $\mu$ L d'extrait sont ajoutés à 230  $\mu$ L de réactif de Bradford qu'on laisse incuber pendant 5 minutes. Les absorbances sont ensuite mesurées contre un blanc à une longueur d'onde de 595 nm (**Bovine, 2015**).

### Expression des résultats

Les résultats sont présentés en équivalents milligramme d'albumine sérum bovine (BSA) à l'aide d'une courbe d'étalonnage préparée en utilisant une gamme de concentrations (0 à 1000 mg/ml) (Annexe 07).

## I-2-11- Dosage des polyphénols totaux

### Principe

Les polyphénols totaux ont été mesurés à l'aide de la spectrophotométrie, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**). Qui consiste à mesurer la concentration totale de groupements hydroxyles dans l'échantillon.

### Mode opératoire

La méthode employée est celle décrite par **Singleton et Rossi (1965)** : A 200  $\mu$ l de chaque extrait d'échantillon à analyser, ont ajouté 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué à 1/10 et 800  $\mu$ l d'une solution de carbonate de sodium à 7.5 %. On mesure l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm après incubation de 30 minutes.

### Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide gallique à l'aide de la courbe de détalonnage (Annexe 07) qui a été effectué en même temps dans les mêmes conditions opératoires en utilisant une gamme de concentrations d'acide gallique (0 à 1000 mg/ml).

### I-2-12- Dosage des flavonoïdes

#### Principe

Les flavonoïdes ont été quantifiés à l'aide d'une méthode qui repose sur la formation d'un complexe très stable entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Latifou lagnika, 2005**).

#### Mode opératoire

2 mL d'extrait à analyser sont ajoutés à 2 mL d'AlCl<sub>3</sub> à 2% ; le mélange est ensuite incubé pendant 30 min pour incubation à l'obscurité et l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 510 nm contre un blanc (**Latifou lagnika, 2005**).

#### Expression des résultats

Les résultats sont présentés en équivalents quercétine en utilisant la courbe d'étalonnage (Annexe 07) qui a été réalisée simultanément dans les mêmes conditions opératoires avec les différentes concentrations (0 à 1000 mg/ml).

### I-3- Evaluation de l'activité antioxydante du pollen

#### Principe

Le radical DPPH<sup>•</sup> est un radical stable qui peut être réduit par un transfert d'hydrogène qui provient des différents antioxydants anti-radicalaire (ArOH) qui se trouvent dans le milieu réactionnel selon le mécanisme réactionnel ci-dessous :



Dans sa version radicale, la bande d'absorption du DPPH\* est de 515 nm, qui disparaît lors de sa réduction par un composé antiradicalaire (**Brand-Williams et al., 1995**).

#### Mode opératoire

1,5mL de la solution éthanolique de DPPH (100µM) sont ajoutés à des tubes contenant 0,5 ml d'extrait à analyser (dilués à différentes concentrations de 0,0034 à 0,688 mg/ml). Après agitation vigoureuse, les tubes sont placés à l'obscurité et à température ambiante pendant 20 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm (**Ramadan, 2010**).

#### Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - Ae) / Ac] * 100$$

Où :

Ac : absorbance de control ;

Ae : absorbance de l'échantillon.

Des valeurs IC<sub>50</sub> sont déterminées à partir du graphe des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons. L'IC<sub>50</sub> est définie comme étant la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH'. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés.

#### **I-4- Analyses polliniques du pollen**

##### **Principe**

Les tests polliniques permettent de déterminer l'origine botanique des miels. Effectivement, ils sont basés sur l'identification et la mesure des pollens observés au microscope optique en les comparant à une banque de pollens (**Azzedine et al., 2007; Makhloufi et al., 2015**).

##### **Mode opératoire**

1g de pollen à analyser sont incorporés dans 50 ml d'eau distillée avant d'effectuer une sonication du mélange pendant une minute à une amplitude de 100 %. Un échantillon de 50 µL du mélange est déposé sur une lame recouverte d'une lamelle. La lame est ensuite séchée sur une plaque chauffante jusqu'à ce que l'extrait soit sec. L'observation du pollen est effectuée au microscope optique aux grossissements Gx10 et Gx40 (**Louveaux et al., 1978**).

##### **Expression des résultats**

Les grains du pollen sont considérés monofloraux lorsqu'ils présentent un taux de pollen dominant supérieur à  $\geq 45$  %.

#### **I-5- Formulation des biscuits**

Les biscuits ont été préparés selon la recette de **Abd-Elmegaly et al. (2022)** après plusieurs expérimentations à domicile, quelques ajustements et selon un plan de mélange.

La composition des biscuits enrichis de poudre de pollen (0% à 5.5%), des farines de pois chiche et de riz est décrite dans le tableau III, Ce choix repose sur des expériences préliminaires visant à identifier des niveaux significatifs en termes d'acceptabilité sensorielle des biscuits obtenus.



Tableau II : Recette des biscuits pour 100 g d'ingrédients totaux.

Ingrédients	FP+ FR+ Pollen	MG	Sucre	Œufs	Vanille	Bicarbonate	Sel	Total
Quantités (g)	55	20	17	6	1	0.5	0.5	100

FP : farine de pois chiche, FR : farine de riz, MG : matières grasses (margarine).

### I-5-1- Ingrédients utilisés

- **La farine** : mélange de farine de riz et de pois chiche.
- **Le pollen d'abeille** : Le pollen utilisé est celui récolté dans la région de Bejaia en raison de sa plus grande richesse en protéines, mini réaux, polyphénols et flavonoïdes.
- **Le sucre, la matière grasse, le bicarbonate de soude, le sel, les œufs et la vanille** : ils sont achetés dans le commerce.

### I-5-2- Plan de mélange

Un plan de mélange a été adopté pour évaluer l'impact des facteurs (critères choisis) sur les réponses sélectionnées, et déterminer les valeurs optimales de ces facteurs (Goupy et Creighton, 2006).

Les critères choisis sont les suivants :

$X_1$  : farine de pois chiche ;  $X_2$  : farine de riz ;  $X_3$  : le pollen d'abeille.

Les réponses sont :

$Y_1$  : aspect visuelle ;  $Y_2$  : Couleur ;  $Y_3$  : odeur ;  $Y_4$  : goût ;  $Y_5$  : consistance en bouche ;  $Y_6$  : texture en bouche ;  $Y_7$  : intensité de goût sucré ;  $Y_8$  : arrière-goût.

Tableau III : Différentes combinaisons expérimentales des biscuits à élaborés.

Formulation	X <sub>1</sub> - de chiche	farine de pois	X <sub>2</sub> -Farine de riz	X <sub>3</sub> - Pollen	Farine de pois chiche (g)	Farine de riz (g)	Pollen (g)
1	0.33		0.57	0.1	18.15	31.35	5.5
2	0.66		0.33	0.01	36.3	18.15	0.55
3	0.34		0.66	0	18.7	36.3	0
4	0.45		0.45	0.1	24.75	24.75	5.5
5	0.66		0.34	0	36.3	18.7	0
6	0.57		0.33	0.1	31.35	18.15	5.5
7	0.335		0.66	0.005	18.425	36.3	0.275
8	0.33		0.66	0.01	18.15	36.3	0.55
9	0.33		0.615	0.055	18.15	33.825	3.025

### I-5-3- Etapes de formulation

Les étapes de fabrication des biscuits sont illustrées dans la figure 06 et dans l'annexe 05.

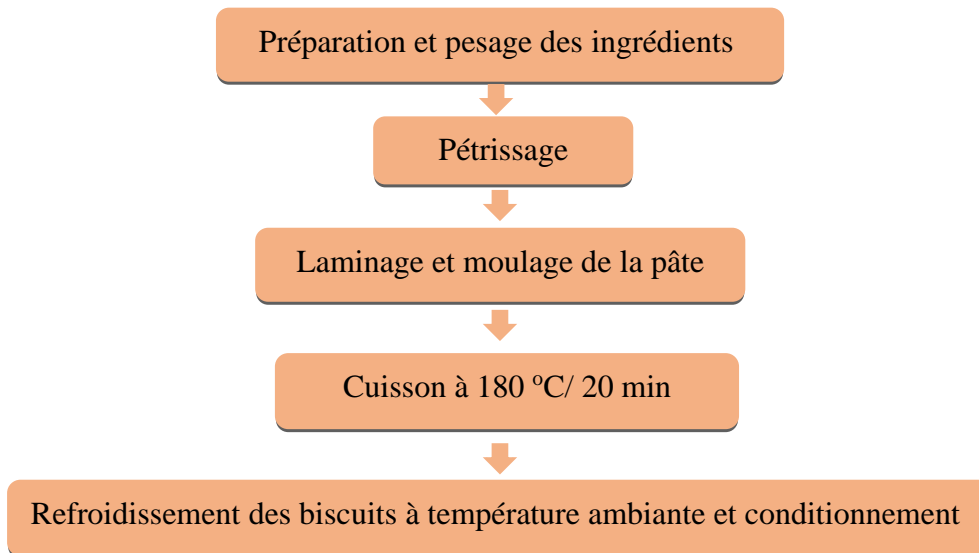


Figure 04 : Étapes de formulation des biscuits.

## **I-6- Analyse microbiologiques des biscuits**

L'objectif de l'analyse microbiologique est d'assurer la qualité hygiénique des biscuits élaborés et de déterminer le risque pour la santé des consommateurs, conformément à **JORA. (2017)**.

### **I-6-1- Préparation de la solution mère et les dilutions décimales**

Le processus de préparation de la suspension mère et des dilutions décimales vise à réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume. Au flacon stérile contenant 225 ml d'eau physiologique, 25 g de produits sont ajoutés, pour obtenir la dilution de  $10^{-1}$  (solution mère). Une série des dilutions en cascade sont ensuite préparées (**JORA., 2004**).

### **I-6-2- Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30 ° C**

Il s'agit de micro-organismes capables de se développer dans des conditions aérobies à une température optimale de 30°C.

#### **Mode opératoire**

Un ensemencement de 1 ml des dilutions  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  est effectué dans des boîtes de Pétri stériles avant de couler le milieu PCA, préalablement fondu et refroidi. Les boîtes de Pétri sont incubées dans une étuve à  $30^{\circ}\text{C} \pm 1$  pendant une période de 48 à 72 heures (**JORA., 2004**). Les boîtes de Pétri qui contiennent un nombre de colonies allant de 10 à 300 sont retenues et la moyenne arithmétique des colonies des dilutions est calculée. Le nombre obtenu est divisé par sa dilution.

### **I-6-3- Recherche et dénombrement des Escherichia coli**

Les coliformes sont des bacilles Gram négatifs, aérobies ou aéro-anaérobies facultatifs et thermotolérants. Ils peuvent se multiplier en présence de sels biliaires et fermenter le lactose, ce qui entraîne la production d'acide et de gaz. En général, les coliformes fécaux (*E. coli*) sont les plus recherchés (**ISO, 2009**).

#### **Mode opératoire**

1 ml de solution mère ou 1 ml des dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  sont introduits dans les boîtes de Pétri stériles avant d'ajouter la gélose EMB, après homogénéisation et refroidissement on ajoute une double couche de gélose, ensuite les boîtes de Pétri sont incubées à 44°C pendant 24 heures (**JORA., 2004**).

Les boîtes de Pétri ayant 150 colonies avec une couleur rouge foncé et un diamètre d'au moins 0,5 mm sont comptées. La moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions est calculée. Le nombre obtenu est divisé par sa dilution.

#### **I-6-4- Recherche et dénombrement des moisissures**

Les levures et les moisissures sont des microorganismes aérobies, généralement acidophiles, mésophiles et souvent osmophiles, c'est-à-dire parvenant à se développer dans des milieux à faible activité d'eau, et leur présence est relativement importante dans l'ensemble des prélèvements d'air et de produit déshydratés (ISO, 2008).

##### **Mode opératoire**

Des dilutions décimales de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  sont utilisées pour déposer aseptiquement 1 ml dans des boîtes de Pétri auxquelles on a ajouté la gélose OGA, après homogénéisation on incube à 45 °C pendant 72 heures.

Le comptage implique de dénombrer toutes les colonies qui ont poussé sur les boîtes, en prenant en considération de compter seuls les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies. Ensuite, il convient de calculer la moyenne arithmétique des colonies entre les diverses dilutions et diviser le nombre obtenu par sa dilution.

#### **I-6-5- Recherche et dénombrement des Staphylocoques à coagulase +**

Les Staphylocoques à coagulase positifs sont des Staphylocoques aureus, qui font partie de la famille des micrococaceae. Ils sont aéro et anaérobies facultatifs

##### **Mode opératoire**

En utilisant des dilutions décimales de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , 1 ml a été placé de manière aseptique sur la gélose Chapman, qui a été préalablement fondue et coulée dans les boîtes de Pétri. Les boîtesensemencées de Chapman ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Il est important de prendre en compte les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies suspectes, des colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune et avec un halo jaune.

#### **I-6-6- Recherche et dénombrement des Salmonella**

La salmonelle est l'un des agents pathogènes d'origine alimentaire les plus fréquemment isolés (Eng *et al.*, 2015), sont des bacilles Gram négatif aéro-anaérobies facultatifs.

## Mode opératoire

### a. Pre-enrichissement

25 g de biscuits broyés sont prélevés et placés dans un flacon contenant 225 ml de TSE (tryptone, sel et eau), puis incubés à 37 ° C pendant 24 heures.

### b. Enrichissement

L'enrichissement est réalisé en utilisant du SFB de simple concentration (S/C). On prélève 10 ml de la solution initiale à l'aide d'une pipette, puis on ajoute 10 ml de SFB (S/C) contenant l'additif de SFB. Ensuite, on incube à 37 ° C pendant 48 heures.

### c. Isolement

Depuis le milieu SFB positif (l'indicateur de couleur jaune a évolué vers le rouge brique), On effectue le repiquage sur le milieu HEKTOEN déjà coulé sur une boîte de Pétri à l'aide d'une anse. Les colonies de salmonelle sont de couleur verdâtre à centre noire.

## I-7- Analyse sensorielle

L'examen sensoriel des biscuits a été réalisé en comptant sur un jury composé de 10 personnes (panel expert de l'Université de Bejaia). 09 échantillons de biscuits (07 enrichis et 02 témoins) ont été exposés par ordre numériques au comité (107, 269, 300, 183, 216, 155, 265, 120, 611) pour évaluer l'aspect visuel, la couleur, l'odeur, le goût, la texture en bouche, la consistance en bouche, l'intensité de goût sucré, l'arrière-goût, et l'appréciation générale des biscuits (Annexe 09).

Les biscuits sont codés selon les informations affichées dans le tableau IV :

**Tableaux IV** : Classification des biscuits en fonction de l'ordre numérique.

Code	107	269	300	183	216	155	265	120	611
Reformulation	3	5	9	1	7	8	4	2	6

## I-8- Analyses physico-chimiques des biscuits

Les échantillons de biscuits sélectionnés par le panel expert sont broyés et tamisés avant pour l'extraction des composés phénoliques et de déterminer (le pH, l'humidité, taux de cendres, les teneurs en lipides, protéines, sucres totaux, polyphénols totaux, caroténoïdes et flavonoïdes).

## **Résultats et discussion**

## II -1- Analyses physico-chimiques des matières premières

Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, taux d’humidité, taux de cendres) des matières premières (MP) sont présentés dans le tableau V.

**Tableau V** : Résultats des analyses physico-chimiques des matières premières.

Paramètres	Échantillons				
	Poudres de pollen			Farines	
	PG	PB	PD	FP	FR
<b>pH</b>	5	4.2	4.8	6.3	5.9
<b>Taux d’humidité (%)</b>	16.87±0.21	19.49±0.183	14.44±0.23	8.76±1.00	11.73±1.93
<b>Taux de cendres (%)</b>	1.93±0.506	2.18±1.493	1.90±0.23	2.99±1.115	1.24±0.30

PG : pollen de Guelma, PB : pollen de Bejaia, PD : pollen de Djelfa, FP : farine de pois chiche, FR : farine de riz

### II -1-1- pH

Le pH indique la qualité et le degré de fraîcheur des produits alimentaires et ces variations peuvent influencer le goût et la durée de conservation de ces produits (**Matallah, 1970**).

D’après les résultats du tableau V nous remarquons que le pH des trois échantillons de pollen d’abeille est acide. La plus faible valeur (5, 4.2, 4.8) est attribuée au pollen de Bejaia, suivie par le pollen de Djelfa, puis celui de Guelma. Ces valeurs sont proches de celles publiées par **Marchini et al. (2006)**, qui ont trouvé des valeurs allant de 4.60 à 5.90.

Les farines de pois chiche et de riz ont également des pH plutôt acides de l’ordre de 6.3 et 5.9 respectivement. Le pH de la farine de riz est similaire de celui publié par **Razafimahefa et al. (2021)** qui est de 6.30. Ces farines peuvent donc être considérées comme des produits légèrement acides (**Razafimahefa et al., 2021**).

### II -1-2- Taux d’humidité

La plus faible teneur en humidité est attribuée au pollen de Djelfa, suivie par le pollen Guelma, puis celui de Bejaia, avec des pourcentages allant de 14.44%,16.87% et 19.49%, respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles du pollen du Brésil publiées par **Marchini et al. (2006)**, qui ont trouvé des teneurs en humidité de l’ordre de 2.61 à 11.06%.

La teneur en humidité du pollen d'abeille séché est limitée de 6 à 10% selon les normes alimentaires de l'Argentine, de la Pologne et de la Suisse. La teneur en humidité du pollen frais du Brésil est de 30% et 4% dans celui déshydraté (**Meloet et Almeida-Muradian, 2011**).

En ce qui concerne les farines de pois chiche et de riz, les teneurs en humidité sont respectivement de 8.76% et 11.73%. **Boucheham (2009)** et **Rebzani et al. (2020)**, ont révélé des teneurs en eau (11.68% et 10.86%) supérieures aux nôtres. Pour la farine de pois chiche **Marchini et al. (2006)** a mentionné un taux d'humidité de la farine de riz de 10.03, similaire à nos valeurs. Donc les farines ainsi produites (pois chiche, et riz) sont conservables pendant un certain temps, car leurs teneurs en eau sont inférieures à 14%, valeur limite rapportée par **Soudy (2011)**.

Une teneur moindre en eau peut être exigée pour certaines destinations, compte tenu du climat, de la durée de transport et de celle de stockage (**Trémolières et al., 1968**).

### II -1-3- Taux de cendres

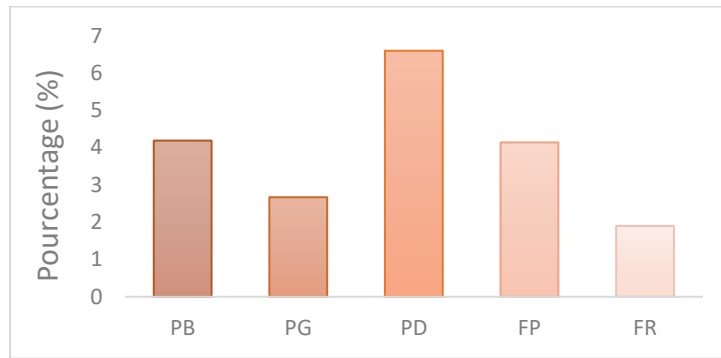
D'après les résultats, le taux de cendres des échantillons de pollen varie d'un échantillon à l'autre, dans le pollen de Djelfa ayant le taux le plus bas de 1.90%, suivi de près par celle de Guelma de 1.93%, tandis que le pollen de Bejaia affiche le taux le plus élevé de 2.18%. Ces résultats sont très proches de ceux publiés par **Marchini et al. (2006)**, avec des taux de cendres variant entre 1.58 et 3.61%, mais sont inférieures à celles publiées par **Motawei et al. (2022)**, avec un taux de cendres de  $04.50 \pm 0.43\%$ .

Les farines de pois chiche et de riz ont des taux de cendres de 2.99% et 1.24% respectivement. Le résultat de la farine de pois chiche est proche de celui publié par **Elhadidy (2009)**, qui est de 2.75%. La farine de riz affiche un taux plus élevé que celui publié par **Motawei et al. (2022)**, qui est de  $0.85 \pm 0.26\%$ .

### II -1-4- Teneur en lipides

Les résultats des teneurs en lipides des différents échantillons exprimées en pourcentage sont présentés dans la figure 05.





**Figure 05 :** Teneur en lipides des échantillons analysés.

Selon les résultats illustrés dans la figure 05, la teneur en lipides dans le pollen de Djelfa (6.6%) est inférieure à celle de Bejaia et de Guelma, qui sont respectivement de 4.19% et 2.67%. Ces résultats ressemblent beaucoup à ceux obtenus par **Fuenmayor *et al.* (2014)** qui ont mentionnées des teneurs très variables de l'ordre de 2.8 à 9.7 g/100 g.

Concernant les farines, le pois chiche est plus riche en lipides avec 4.14% ; proche de celle publiée par **Necheporuk *et al.* (2021)** (4.3%). Le riz enregistre seulement 1.9 %, c'est une valeur qui reste supérieure à celle rapportée par **Aly et Seleem (2015)** de 0.67%.

#### II -1-5- Teneur en caroténoïdes

Les résultats du dosage des caroténoïdes ont révélé des valeurs très proches entre le pollen de Guelma et celui de Bejaia et est plus faible dans le pollen de Djelfa ( $0.18 \pm 0.01$  mg/g,  $0.10 \pm 0.009$  mg/g et  $0.04 \pm 0.002$  mg/g, respectivement). Le pollen d'abeille de Thaïlande et celui du sud-est du Brésil enregistrent des valeurs similaires :  $0.01530$  mg/g et  $0.0563-0.1989$  mg/g, respectivement, publiée par **Oliveira *et al.* (2009)**.

En ce qui concerne les farines, le pois chiche renferme  $0.10 \pm 0.005$  mg de caroténoïdes par gramme de farine ; teneur supérieure à celle publiée par **Ounane et Autran (2001)** qui est de  $0.07022$  mg/g. Le riz n'a pas fait l'objet de quantification de ces pigments antioxydants puisqu'ils y sont absents.

#### II -1-6- Teneur en sucres totaux

Les résultats des teneurs en sucres des différents échantillons exprimées en mg/g sont présentés dans la figure 06.

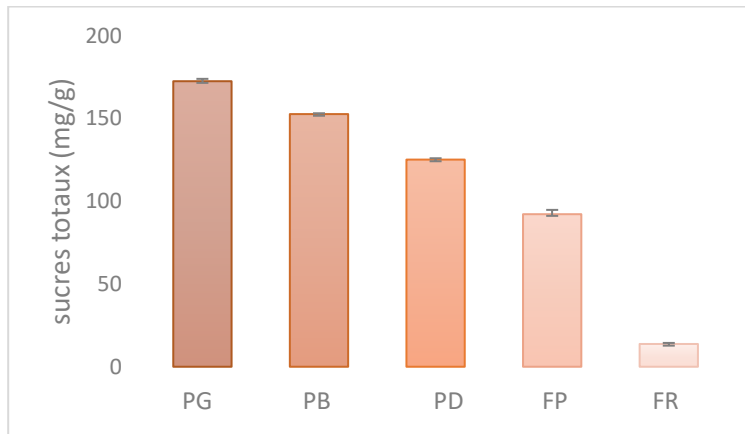


Figure 06 : Teneur en sucres totaux des échantillons analysés.

La figure 06 montre des teneurs décroissantes en sucres totaux selon l'ordre suivant des échantillons de pollen de Guelma, Bejaia, Djelfa, farine de pois chiche puis celle du riz  $172.57 \pm 0.43 > 152.7 \pm 0.5 > 125.2 \pm 0.8 > 92.2 \pm 0.6 > 13.76 \pm 0.6 \text{ mg/g}$ , respectivement. Les résultats obtenus des trois poudres de pollen se situent dans la plage rapportée par **Bertoncelj et al. (2018)** pour vingt-huit échantillons de pollen d'abeille. **Hawkins et al. (2009)** et **USDA (2015)** ont rapporté des teneurs en glucides beaucoup plus élevées ; 389mg/g pour le pois chiche et 801.3 mg /g pour le riz.

La composition chimique du pollen d'abeille varie considérablement selon les espèces végétales et les conditions de croissance, l'agriculture, le climat, les caractéristiques botaniques et aussi la récolte et les conditions de stockage (**Serra Bonvehi et al., 2001 ; Almaraz-Abarca et al., 2004 ; Anjos et al., 2019**)

## II -1-7- Capacité d'absorption de l'eau et de l'huile

Tableau VI : Résultats de la capacité d'absorption d'eau et de l'huile.

Échantillons	PG	PB	PD	FP	FR
<b>Paramètres</b>					
<b>CAE (g/100g)</b>	54.71	31.25	68.23	120.76	154.76
<b>CAH (g/100g)</b>	61.06	61.13	63.94	69.77	67.175

La capacité d'absorption de l'eau des farines et des pollens est due à leur teneur élevée en protéines qui ont une forte affinité pour les molécules d'eau, la composition en hydrates de carbone (glucides). La granulométrie des farines peut également jouer un rôle dans l'absorption de l'eau (**Sreemara et al., 2012 ; Solnake et al., 2021**).

Les échantillons de pollen d'abeille ont une capacité d'absorption d'eau variant entre 31.25g/100g pour le pollen de Bejaia et 68.23g/100 g pour celui de Djelfa. Ces valeurs sont très proches de celles enregistrées pour les trente-cinq échantillons de pollen d'abeille indien (47à 72 g/ 100g), publiées par **Thakur et Nanda (2020)**.

Quant aux farines on a remarqué que c'est le riz qui absorbe plus d'eau (154.76 g/100 g) que le pois chiche (120.76 g/100 g). La valeur publiée par **Ghavidel et al. (2006)** qui est de 136.2 g/100 g de pois chiche est proche à la nôtre, Celle de riz est supérieure à celle rapportée par **Razafimahefa et al. (2021)** de 17.56g/100 g.

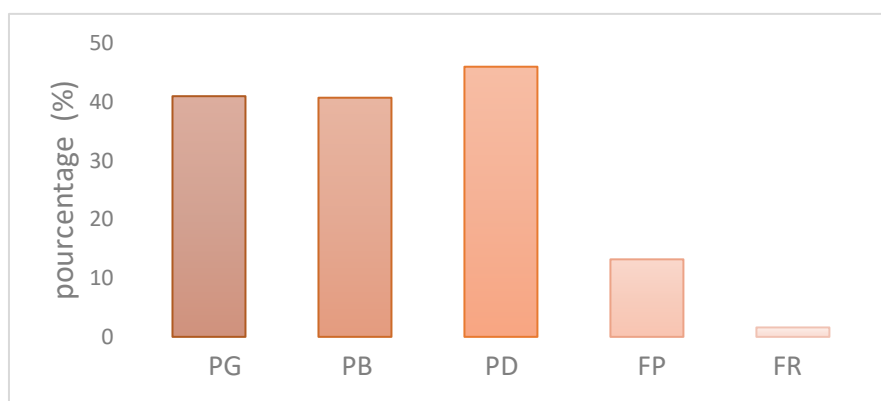
**Selon Boye et al. (2010)**, les produits alimentaires qui ont une forte capacité de rétention d'eau conservent mieux leur friabilité pendant la conservation.

Les résultats de la capacité d'absorption de l'huile se présentent de la manière suivante : Pollen de Djelfa (63.94g/100 g) suivi de celui de Bejaia (61.13g/100 g) puis celui de Guelma (61.06 g/100 g). Ces valeurs sont inférieures à celles enregistrées pour sept échantillons de pollen d'abeille, où la valeur la plus faible est de 100.15g/100g, tandis que la valeur la plus élevée est 300.50 g/100g (**Laaroussi et al., 2023**).

La capacité d'absorption de l'huile des farines analysées est de 69.77g/100 g pour la farine de pois chiche et 67.175g/100 g pour la farine de riz. **Yixiang et al. (2013)** ont signalé une capacité d'absorption de l'huile de la farine de pois chiche supérieure à la nôtre qui est de 107 g/100 g. Celle de riz est inférieure à celle enregistrée par **Razafimahefa et al. (2021)** qui est de 127.52g/100 g.

#### II -1-8- Rendement d'extraction

Le graphique suivant montre les résultats de l'extraction des matières premières testées.



**Figure 07 :** Rendement d'extraction.

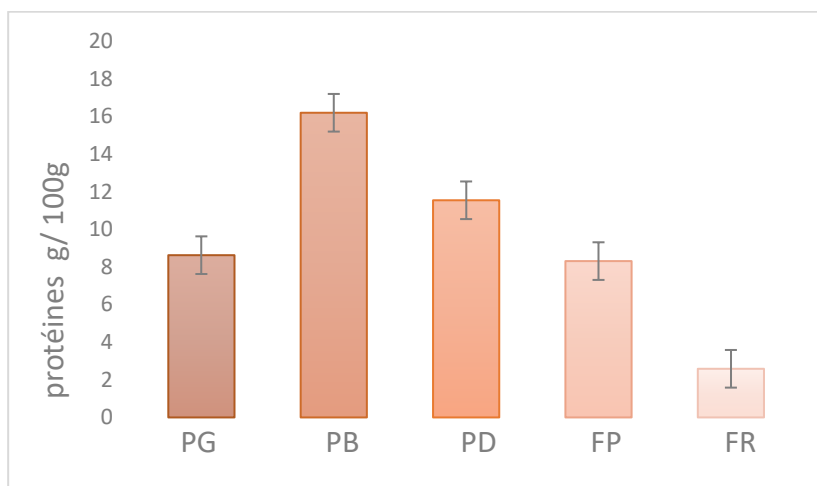
Les résultats illustrés dans la figure 07 réveillent de légères différences dans le rendement d'extraction des composés phénoliques entre les trois pollens Guelma, Bejaia et Djelfa (40.72 %, 40.98 % et 46%, respectivement).

Pour les farines, le rendement est beaucoup plus faible de l'ordre 13.12 % pour la farine de pois chiche et 1.6 % pour la farine de riz.

On peut expliquer les légères variations dans les rendements d'extraction des 3 pollens d'abeilles par l'humidité, l'origine géographique et la nature florale.

### II -1-9- Teneur en protéines

Les résultats des teneurs en protéines des différents échantillons exprimées en g/100g d extrait sec sont présentés dans la figure 08.



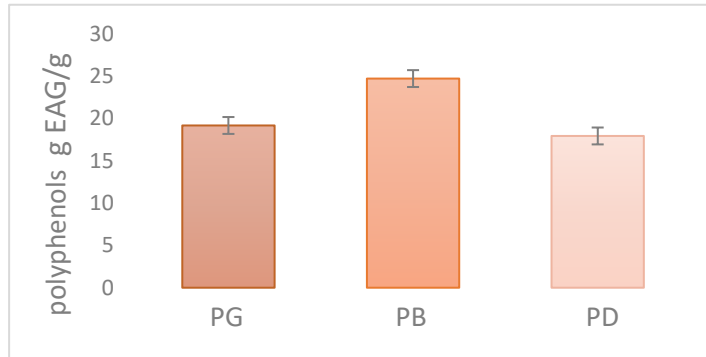
**Figure 08 :** Teneur en protéines des échantillons analysés.

Les résultats de la figure 08 montrent que le taux de protéines le plus élevé est enregistré dans le pollen de Bejaia suivi de celui de Djelfa puis celui de Guelma (16188±96 mg EBSA/100g ; 11539±101 mg EBSA/100g et 8621±41 mg EBSA/100g, respectivement). Les résultats du pollen de Djelfa et de Guelma sont inférieurs à ceux fournis par **Yang et al. (2013)** qui s'élèvent de 14860 à 28960 mg EBSA/100g, par contre le résultat du pollen de Bejaia est dans l'intervalle.

Notre farine de pois chiche a enregistré une valeur en protéines de 8307±187mg EBSA /100g. Ce résultat est inférieur à celui trouvé par **Motawei et al. (2022)** qui a cité une valeur de 25.40±0.24 g/100g et une teneur de 7.80±0.33 g/100g pour la farine de riz qui est supérieure à notre résultat : 2585±35mg EBSA /100g.

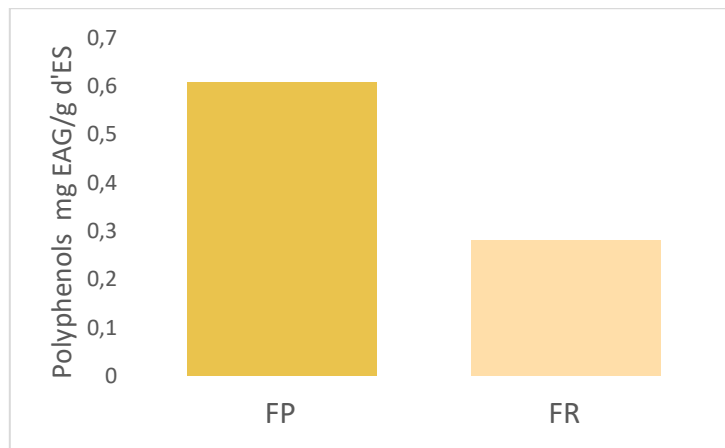
## II -1-10- Teneur en polyphénols totaux

Les résultats des teneurs en polyphénols des différents échantillons présentés dans les figures 09 et 10.



**Figure 09 :** Teneur en composés phénoliques des échantillons de pollen étudiés.

D'après les résultats obtenus, on remarque des différences entre les valeurs en composés phénoliques des échantillons du pollen analysés, ils sont classés par ordre croissant suivant : pollen de Djelfa < pollen de Guelma < pollen de Bejaia où la valeur la plus élevée est  $24.72 \pm 0,08$  mg EAG/g et la plus faible est  $17.34 \pm 0,26$  mg EAG/g. Les résultats sont dans la plage des valeurs mentionnées par **Asmae et al. (2021)** pour huit échantillons de pollen d'abeille monofloral récoltés dans différentes localités du Maroc ( $8.07 \pm 1.03$  à  $32.38 \pm 0.15$  mg d'EAG/g).

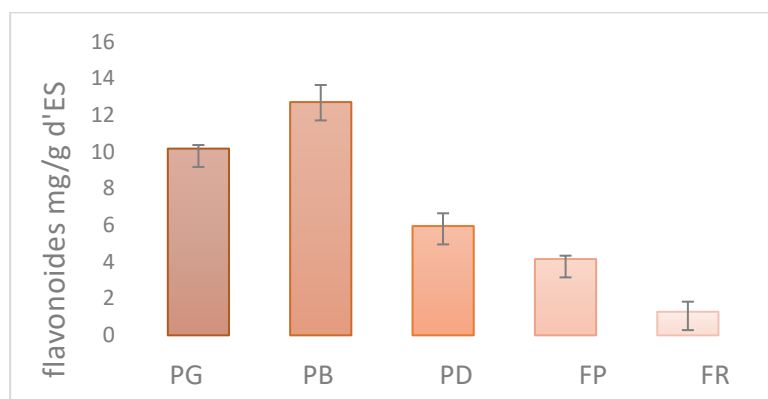


**Figure 10 :** Teneur en composés phénoliques des farines étudiées.

Les farines de pois chiche et de riz contiennent respectivement  $0.60 \pm 0.01$  mg EAG/g d'ES et  $0.28 \pm 0.04$  mg EAG/g d'extrait sec et qui est équivalent à  $0.56 \pm 0.08$  mg EAG/g de farine. **Zia-Ul- haq et al. (2008)** ont signalé une teneur en composés phénoliques dans le pois chiche de 1.12 mg EAG/g d'ES et **Qadir et Wani (2023)** ont publié des valeurs de l'ordre de 4.40 et 6.40 mg EAG/ g de riz brun.

## II -1-11- Dosage des flavonoïdes

Les résultats des teneurs en flavonoïdes des différents échantillons exprimées en mg/g d'extrait sec sont présentés dans la figure 11.



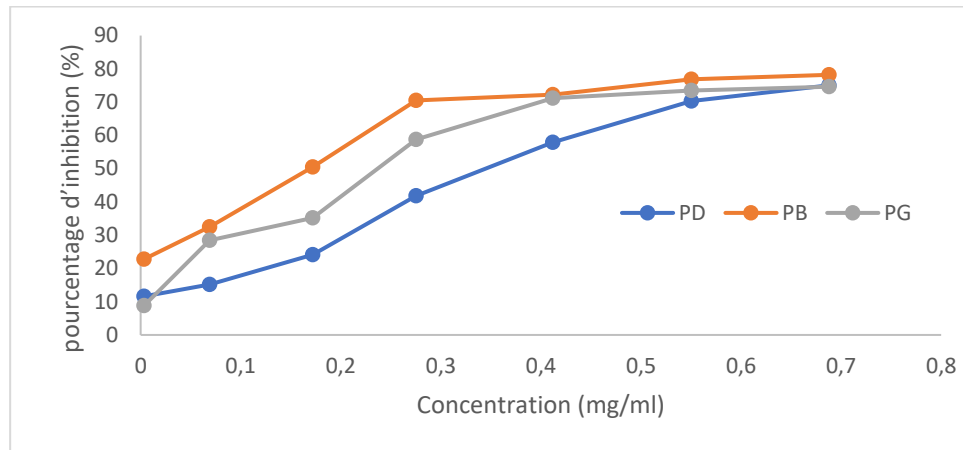
**Figure 11 :** Teneur en flavonoïdes des échantillons analysés.

Les échantillons de pollen d'abeille analysés ont montré des valeurs en flavonoïdes variant entre  $10.17 \pm 0.19$  mg EQ/g d'ES dans le pollen de Guelma et de  $12.71 \pm 0.93$  mg EQ/g d'ES dans le pollen de Bejaia,  $5.95 \pm 0.69$  mg EQ/g d'ES dans le pollen de Djelfa. (Figure 11). Nos résultats sont supérieurs aux valeurs des sept échantillons de pollen récoltés des différentes zones régions du Maroc publiées par **Laaroussi et al. (2023)**, qui varient de  $1.51 \pm 0.28$  à  $4.57 \pm 0.14$  mg EQ/g d'ES.

La teneur en flavonoïdes des farines de pois chiche et celle du riz sont de l'ordre de  $4.15 \pm 0.18$  mg EQ/g d'ES équivalent à  $8.3 \pm 0.36$  mg EQ/g de poudre de pois chiche,  $1.28 \pm 0.55$  mg EQ /g d'ES, respectivement. L'étude de **Zia-Ul-haq et al. (2008)** a rapporté une teneur en flavonoïdes pour la farine de pois chiche de  $0.79$  mg EQ /g d'extrait sec.

## II -2- Evaluation de l'activité antioxydante du pollen

La figure 12 montre l'évolution du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits de pollen.



**Figure 12 :** Evolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de pollen étudiés.

Selon des études précédentes, il a été démontré que le pollen des abeilles présentait une capacité antioxydante élevée (Campos *et al.*, 2003 ; Carpes *et al.*, 2007 ; Mărghitaş *et al.* 2009 ; Almedia *et al.*, 2017 ; Suriyatem *et al.*, 2017 ; Sun *et al.*, 2017).

D'après les résultats représentés dans la figure 12, on observe une augmentation progressive du taux d'inhibition du radical DPPH• en fonction des concentrations croissantes des trois extraits de pollen. On déduit que l'aptitude qu'ont les extraits à neutraliser le radical DPPH• est fortement influencée par la concentration. En effet, une augmentation du pourcentage d'inhibition est observée pour les trois extraits jusqu'à la concentration de 0.688 mg/ml avec  $75.05 \pm 0.45$  % pour le pollen de Djelfa et  $74.62 \pm 0.77$  % pour celui de Guelma,  $78.2 \pm 1.05$  % pour celui de Bejaia qui pourrait correspondre à une inhibition importante du radical, reflétée par la décoloration du DPPH du violet au jaune pâle.

On exprime également les résultats en  $IC_{50}$ , qui correspondent à la quantité d'extrait requise pour diminuer de moitié la quantité du radical DPPH• présent, soit 50%.

Les  $IC_{50}$  (Annexe 11, Tableau V) montrent que les extraits du pollen de Djelfa, de Guelma et de Bejaia nécessitent respectivement une concentration de 0.38, 0.30 et 0.20 mg/ml pour neutraliser 50% du radical libre DPPH•. Ces valeurs sont proches de celles publiées par Campos *et al.* (2003), qui ont utilisé des échantillons de pollen d'abeilles en provenance du Portugal et de la Nouvelle-Zélande et ont trouvé des valeurs comprises entre 0.04 et 0.5 mg / ml.




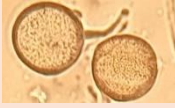



Le pollen d'abeille présente une activité antioxydante qui dépend de la diversité écologique et de la prédominance de l'espèce végétale à partir de laquelle il a été extrait.

Toutefois, il n'y a pas de lien direct entre la quantité de polyphénols et la concentration en activité antioxydante (Dorman *et al.*, 2003 ; Miliauskas *et al.*, 2004 ; Özkök et Silici, 2017).

### II -3- Analyses polliniques

Les résultats de l'analyse pollinique qualitative et quantitative de trois échantillons de pollen d'abeille sont résumés dans le Tableau VII.

**Tableau VII : Spectres polliniques et taux de pollens.**

Pollen	Illustration	Échantillons		
		PG	PB	PD
Fabacae (%)		25	33	8
Ericacae (%)		5	11	1
Rosacae (%)		5	2	6
Poacacae (%)		38	47	60
Laminacae (%)		5	2	2
Asteracae (%)		17	2	18
Apicacae (%)		5	4	5



Selon les résultats obtenus, les pollens monofloraux contiennent principalement des pollens de la famille botanique Poacaceae, avec un pourcentage respectif de 47 et 60 % pour le pollen des Wilaya de Bejaïa et Djelfa. Cependant, le pollen provenant de la wilaya de Guelma est d'origine botanique polyfloraux. Les résultats indiquent qu'il contient trois familles de pollens d'accompagnement, à savoir les familles Poacaceae et Fabacae, ainsi que la famille Asteraceae, avec un pourcentage de 38, 25 et 17 % respectivement.

Le pollen la morphologie varie selon les différentes espèces végétales ; se produisent dans des formes variables (**R et al., 2013**)

## **II -4- Analyses microbiologiques des biscuits**

L'évaluation de la qualité microbiologique des biscuits est indispensable afin d'assurer la conformité du produit fabriqué et garantir la sécurité des consommateurs (Annexe 08, tableau I).

La recherche des germes aérobies, Escherichia coli, Staphylocoques à coagulase +, et Salmonella dans les 9 recettes de biscuits révèle une absence complète de ces agents saprophytes et/ou pathogènes.

Les résultats de la recherche des levures et les moisissures dans les biscuits révèlent qu'il y a moins de 30 colonies de moisissures et de levures dans 1 g de biscuits. Toutefois, ces résultats restent inférieurs aux normes établies dans **le journal officiel de la République algérienne (2017)**, qui sont de  $10^2$  à  $10^3$  colonies de moisissures UFC / g de biscuits.

Ces résultats respectent donc les normes établies par le **JORA. (2017)**, qui confirment la bonne qualité microbiologique des matières premières et le respect des conditions de bonne pratique d'hygiène et de fabrication.

## **II -5- Analyse sensorielle**

Les résultats du test de dégustation des 9 formulations de biscuits, effectué par un panel de 10 experts (Annexe 10), qui ont examiné les différentes caractéristiques organoleptiques ci-dessous : les aspects visuels, la couleur, l'odeur, le goût, la texture en bouche, la consistance en bouche, l'intensité du goût sucré, l'arrière-goût et l'appréciation globale des produits.

### **✓ Appréciation globale**

Selon les résultats de l'analyse globale, les dégustateurs préfèrent le biscuit de la recette 8, 9 et 5 qui contiennent un pourcentage de farine de riz et de pois chiche, ainsi que de poudre de pollen d'abeille, comme suit :

- Formulation (5) : farine de pois chiche : 66 %, farine de riz : 34%, poudre de pollen d'abeille : 0% ;
- Formulation (8) : farine de pois chiche : 33 %, farine de riz : 66%, poudre de pollen d'abeille : 1% ;
- Formulation (9) : farine de pois chiche : 33 %, farine de riz : 61.5%, poudre de pollen d'abeille : 5.5%.

Les résultats obtenus indiquent également que le biscuit de la formulation 5 était considéré comme plus attirant sur le plan visuel, tandis que les formulations 1 et 4 étaient jugées plus foncées par rapport aux autres formulations. De plus, la formulation 4 était jugée plus forte en termes d'odeur.

La formulation 8 était considérée comme la plus agréable par rapport aux autres biscuits en termes de goût, tandis que la formulation 9 était considérée comme la plus croustillante. Donc le pollen apporte de l'apparence et de la texture, les biscuits enrichis étaient plus sombres et avaient un arrière-goût très fort et une consistance plus molle que le témoin.

En ce qui concerne la constance en bouche, les biscuits des formulations 1,4 et 6 étaient similaires comme les plus lisses, tandis que les biscuits de formulation 5 et 6 étaient similaires comme les plus sucrés. Enfin, le biscuit de formulation 1 était la plus forte en arrière-goût.

### **II -6- Analyses physico-chimiques des biscuits**

Le tableau VIII présente les caractéristiques physico-chimiques du biscuit témoin de la formulation 5 (codé A) et de biscuit fortifié par 0.55 % de la formulation 8 (B) ; et celui fortifié par 3.025 % de la formulation 9 (C).

**Tableau VIII** : Caractéristiques physico-chimiques (moyenne de 3 répétitions ± écart type) du biscuit témoin et des biscuits fortifiés par le pollen d'abeille.

Echantillons	A	B	C
<b>Paramètres</b>			
<b>Ph</b>	7.3±0.01	7.3±0.02	7.1±0.04
<b>Humidité (%)</b>	5.43±0.22	4.27±0.130	4.38±0.24
<b>Cendres (%)</b>	2.57±0.102	2.16±0.13	2.10±0.20
<b>Lipides totaux (%)</b>	19.59	19.61	19.62
<b>Sucres totaux (mg/g)</b>	220.6±13	176.8±7.6	179.6±6.4
<b>Protéines (mg EBSA/g)</b>	26.68±0.28	27.01±0.05	26.40±0.30
<b>Polyphénols (mg EAG/g d'ES)</b>	0.51±0.01	0.55±0.006	0.75±0.05
<b>Flavonoïdes (mg EQ/g d'ES)</b>	2.38±0.19	2.20±0.13	2,74±0.33
<b>Caroténoïdes (mg/g)</b>	0.04±0.0003	0.06±0.010	0.07±0.002

### II -6-1- pH

Les résultats de la mesure du pH pour les trois biscuits analysés sont proches avec 7.3±0.01 pour le témoin (A), 7.3±0.02 pour le biscuit enrichi par 0.55 % de pollen (B) et 7.1±0.04 pour le biscuit enrichi par 3.025 % de pollen (C). L'ajout de la poudre de pollen n'a pas vraiment affecté le pH des biscuits.

### II -6-2- Taux de l'humidité

La teneur en humidité est de 5.43 ±0.22% pour le biscuit A, de 4.27±0.13% et 4.38±0.24% pour les biscuits B et C, respectivement.

La présence d'humidité élevée dans le biscuit A, qui contient 66 % de la farine de pois chiche, peut être expliquée par sa capacité d'absorption d'eau inférieure à celle du riz. Puisque les biscuits B et C contiennent respectivement 66 % et 61,5% de la farine de riz.

### II -6-3- Taux de cendres

Les trois biscuits étudiés A, B et C présentent des teneurs en cendres presque similaires. De l'ordre de  $2.57 \pm 0.102\%$ ,  $2.16 \pm 0.13\%$  et  $2.10 \pm 0.20\%$ , respectivement.

### II -6-4- Teneur en lipides

Les données sur les teneurs en lipides des trois biscuits A, B et C affichées dans le tableau VIII présentent des résultats particulièrement similaires, de 19.59 %, 19.61% et de 19.62%, respectivement. L'incorporation du pollen d'abeille n'a pas eu d'impact sur la concentration en matières grasses des biscuits.

### II -6-5- Teneur en sucres totaux

Les résultats des teneurs en sucres ont montré que le biscuit témoin A plus riche en sucres avec  $220.6 \pm 13$  mg/g, alors que les biscuits B et C enrichis à raison de 0.55 et 3.025 % affichent des teneurs similaires de l'ordre de  $176.8 \pm 7.6$  mg/g et  $179.6 \pm 6.4$  mg/g, respectivement.

Les faibles teneurs en sucres de ces derniers confirment les résultats du dosage des sucres totaux des matières premières ; le biscuit A contient 66 % de farine de pois chiche qui est plus riche en sucres totaux.

### II -6-6- Teneur en protéines

La quantification des protéines a montré des résultats identiques pour les trois biscuits de  $26.68 \pm 0.28$  mg EBSA/g,  $27.01 \pm 0.05$  mg EBSA/g et  $26.405 \pm 0.30$  mg EBSA/g, respectivement.

### II -6-7- Rendement d'extraction

Le graphique suivant montre les résultats de l'extraction des composés phénoliques des biscuits :

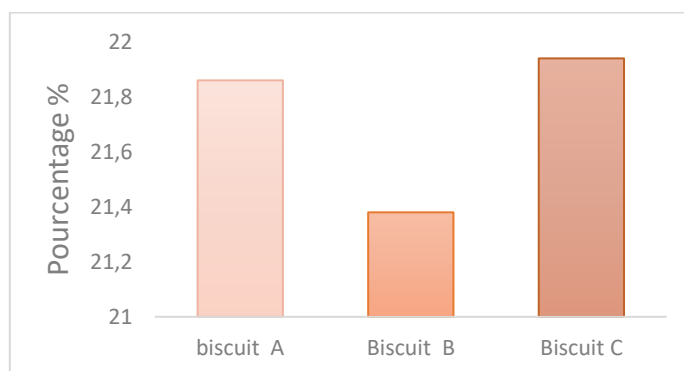


Figure 13 : Rendement d'extraction des composés phénoliques.

Un rendement d'extraction de 21.94% est observé pour le biscuit C, suivi de biscuit A (21.86%), suivi le biscuit B (21.38%).

#### **II -6-8- Teneur en polyphénols totaux**

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux ont réveillé une augmentation de ces derniers dans les biscuits fortifiés aux pollens notamment celui a 3.025 %.

#### **II -6-9- Teneur en flavonoïdes**

Le biscuit C contient également une quantité plus élevée en flavonoïdes que les autres, en raison de sa fortification par 3.025 % de pollen d'abeille riche en flavonoïdes. Les trois biscuits analysés ont montré des valeurs en flavonoïdes variant entre  $2.38 \pm 0.19$  mg EQ/g d'ES dans le biscuit A, de  $2.20 \pm 0.13$  mg EQ/g d'ES dans le biscuit B et  $2.74 \pm 0.33$  mg EQ/g d'ES dans biscuit C.

#### **II -6-10- Teneur en caroténoïdes**

Les teneurs plus élevées en caroténoïdes dans les biscuits B et de C sont également dû à l'ajout de 0.55 % et 3.025 % de pollen d'abeille, respectivement.

L'ajout de pollen d'abeille, riche en ces substances chimiques, dans les biscuits devrait avoir un effet significatif sur leur concentration dans les produits finis (**Kostić et al., 2020**).

# **Conclusion et perspectives**

Notre travail avait comme objectif la formulation d'une recette de biscuit sans gluten à base de la farine de pois chiche et de riz, fortifié par la poudre de pollen d'abeille. La sélection des matières premières repose d'une part sur la substitution de la farine de blé riche en gluten par les farines de pois chiche et de riz.

L'ajout de pollen d'abeille au biscuit vise à évaluer sa qualité nutritionnelle et sa qualité organoleptique, ainsi que sa valeur nutritionnelle et les composés antioxydants qui ont des propriétés bénéfiques pour la santé des consommateurs. Le pois chiche riches en vitamines, protéines est source de fibres. Le riz est riche en minéraux permet aussi une meilleure absorption et assimilation des nutriments.

L'analyse physico-chimique a montré que les pollens collectés des trois régions d'étude présentent globalement une composition comparable à celle rapportée par d'autres auteurs. La matière première utilisée (farines de riz et de pois chiche) est une source de protéines végétales qui apporte 8.3g de protéines pour 100g de farine de pois chiche. Le riz même s'il a enregistré les plus faibles valeurs et une teneur en nutriments, il est utilisé pour améliorer l'adhérence des ingrédients et apporter un effet texturant tandis que le pollen d'abeille est riche en protéines, minéraux et caroténoïdes, ainsi qu'en sucres. De plus, il possède une activité antioxydante élevée en raison de sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et caroténoïdes.

L'analyse microbiologique a montré une absence totale des indicateurs de contamination qui prouve les bonnes pratiques d'hygiène dans la manipulation des produits et conditionnement.

De l'analyse sensorielle menée par le pane expert, il ressort que les biscuits enrichis les plus appréciés sont ceux à 0.55 % (formulation 8) et à 3.025% de pollen (formulation 9). Les analyses physico-chimiques de ces derniers ont montré un enrichissement en termes de composés phénoliques, flavonoïdes et caroténoïdes.

D'après tous les résultats mentionnés, ainsi que les résultats des analyses physicochimiques effectuées sur les biscuits, il est possible d'incorporer du pollen d'abeille dans les biscuits sans gluten à base de farines de légumineuses et de céréales et apporter un impact positif sur leurs propriétés phytochimiques et sensorielles tels que le goût et la texture. Les farines de pois chiche et de riz pourraient ainsi devenir une alternative intéressante à la farine de blé.

Suite aux résultats obtenus, nous pensons que ce travail mériterait d'être reconduit et d'explorer de nouvelles perspectives de recherche telles que :

- La combinaison d'autres variétés des farines sans gluten ;
- L'étude des propriétés physiques des biscuits élaborés (la texture et la couleur) ;
- L'évaluation des pertes en phytonutriments à la cuisson ;
- Rechercher les causes de l'arrière-goût aux fortes concentrations de pollen et tenter de le neutraliser.



# **Références bibliographiques**

## A

**Abd-Elmegaly, F. M., Souzan, Latif, S., Sanaa., Saleh, A. M., & Abdel-Hameed, S. M (2022).** Nutritional Quality and Sensory Attributes of Biscuits Fortified with Bee Pollen. *AswanUniversity Journal of Science and Technology*, 2(2).

**Abebe, W., Collar, C., & Ronda, F. (2015).** Impact of variety type and particle size distribution on starch enzymatic hydrolysis and functional properties of tef flours. *Carbohydrate Polymers*, 115.

**Ahmad, S., & Ahmed, M. (2014).** A review on biscuit, a largest consumed processed product in india, *Its Fortification and Nutritional Improvement*. (Vol. 3, Issue 2).

**Allouch, W., Sfayhi, D., Doggui, L., & Debbabi, H. (2022).** An overview on the incorporation of novel ingredients on nutritional, textural, and organoleptic properties of gluten-free cereal products. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, 6(13), 66–74.

**Almaraz-Abarca, N., Campos, M. D. G., Antonio Ávila-Reyes, J., Naranjo-Jiménez, N., -Corral, J., & González-Valdez, L. S. (2004).** Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interciencia*, 29(10).

**Almeida-Muradian, L. B., Pamplona, L. C., Coimbra, S., & Barth, O. M. (2005).** Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1).

**Altunatmaz, S. S., Tarhan, D., Aksu, F., Barutçu, U. B., & Or, M. E. (2017).** Mineral element and heavy metal (Cadmium, lead and arsenic) levels of bee pollen in Turkey. *Food Science and Technology (Brazil)*, 37.

**Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2009).** Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(SUPPL.4).

**Aly, M. M. A., & Seleem, H. A. (2015).** Gluten-Free Flat Bread and Biscuits Production by, Extruded Soy Protein and Pumpkin Powder. *Food and Nutrition Sciences*, 06(07).

**Anjos, O., Fernandes, R., Cardoso, S. M., Delgado, T., Farinha, N., Paula, V., Estevinho, L. M., & Carpes, S. T. (2019).** Bee pollen as a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in black pudding. *LWT*, 111.

**AOAC. (2000).** Official Methods of Analysis 17th Edition. Method 925. 10. *Association of Official Analytical Chemists, Rockville, MD, USA.*

**Araújo, J. S., Chambó, E. D., Costa, M. A. P. de C., da Silva, S. M. P. C., de Carvalho, C. A. L., & Estevinho, L. M. (2017).** Chemical composition and biological activities of mono- and heterofloral bee pollen of different geographical origins. *International Journal of Molecular Sciences, 18(5).*

**Arepally, D., Reddy, R. S., Goswami, T. K., & Datta, A. K. (2020).** Biscuit baking: A review. *LWT, 131,* 109726.

**Ares, A. M., Valverde, S., Bernal, J. L., Nozal, M. J., & Bernal, J. (2018).** Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 147,* 110–124.

**Arooj, Asia, Faiz, S., Anwar Shah, J., Ramzan, A., Ihsan, M., & Saleem, M. (2021).** Technological, Processing and Nutritional Aspects of Chickpea (*Cicer arietinum*). *Saudi Journal of Pathology and Microbiology, 6(4).*

**Asmae, E. G., Nawal, E. M., Bakour, M., & Lyoussi, B. (2021).** Moroccan Monofloral Bee Pollen: Botanical Origin, Physicochemical Characterization, and Antioxidant Activities. *Journal of Food Quality, 2021.*

**Asmarani, F., Wirjatmadi, B., & Adriani, M. (2015).** Pengaruh Pemberian Tepung Jagung dengan Suplementasi Tepung Tempe terhadap Kadar Gula Darah Tikus Wistar Diabetes Mellitus. *Jurnal Ilmiah Kedokteran, 4(2)*

**Ayed, C., Lim, M., Nawaz, K., Macnaughtan, W., Sturrock, C. J., Hill, S. E., Linforth, R., & Fisk, I. D. (2021).** The role of sodium chloride in the sensory and physico-chemical properties of sweet biscuits. *Food Chemistry: X, 9,* 100115.

**Azzedine, C., Marie-José, B., Yasmina, A. K., Salima, B., & Ali, T. (2007).** Melissopalynologic and physicochemical analysis of some North-East Algerian honeys. *European Journal of Scientific Research, 18(3).*

## B

**Balakireva, A. V., & Zamyatnin, A. A. (2016).** Properties of gluten intolerance: Gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. In *Nutrients* (Vol. 8, Issue 10).

**Behera, S. M., & Srivastav, P. P. (2018).** Recent Advances in Development of Multi Grain Bakery Products: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(05).

**Bertoncelj, J., Polak, T., Pucihar, T., Lilek, N., Kandolf Borovšak, A., & Korošec, M. (2018).** Carbohydrate composition of Slovenian bee pollens. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(8).

**Biesiekierski, J. R. (2017).** What is gluten? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32(S1), 78–81.

**Bogdanov, S. (2006).** Contaminants of bee products. In *Apidologie* (Vol. 37, Issue 1).

**Boukid, F. (2021).** Cereal-based foodstuffs: The backbone of mediterranean cuisine. In *Cereal Based Foodstuffs: The Backbone of Mediterranean Cuisine*.

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.

## C

**Caio, G., Volta, U., Sapone, A., Leffler, D. A., De Giorgio, R., Catassi, C., & Fasano, A. (2019).** Celiac disease: A comprehensive current review. In *BMC Medicine* (Vol. 17, Issue 1).

**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.

**Chavan, R. S., Sandeep, K., Basu, S., & Bhatt, S. (2016).** Biscuits, Cookies, and Crackers: Chemistry and Manufacture. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 437–444). Elsevier.

**Choi, E. M. (2007).** Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*Pinus densiflora*) pollen extract. *Phytotherapy Research*, 21(5).

**Conte, P., Del Caro, A., Balestra, F., Piga, A., & Fadda, C. (2018).** Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach. *LWT*, 90.

**Conte, P., Fadda, C., Drabińska, N., & Krupa-Kozak, U. (2019).** Technological and nutritional challenges, and novelty in gluten-free breadmaking: A review. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* (Vol. 69, Issue 1).

**Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J., & Burlando, B. (2017).** Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 8, Issue JUN).

## D

**Dall'Asta, C., Cirlini, M., Morini, E., Rinaldi, M., Ganino, T., & Chiavaro, E. (2013).** Effect of chestnut flour supplementation on physico-chemical properties and volatiles in bread making. *LWT*, 53(1).

**Davidson, I. (2019a).** Chapter 1: The Biscuits. In *Biscuit, Cookie and Cracker Production*.

**Davidson, I. (2019b).** Industrial Biscuit Production. In *Biscuit, Cookie and Cracker Production: Process, Production and Packaging Equipment, Second Edition*. Elsevier.

**Davidson, I. (2019c).** Industrial Biscuit Production. In *Biscuit, Cookie and Cracker Production: Process, Production and Packaging Equipment, Second Edition*. Elsevier.

**DebMandal, M., & Mandal, S. (2011).** Coconut (*Cocos nucifera* L.: Areaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(3).

**Denis, A. (2011).** Les biscuits et gâteaux : toute une diversité. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 46(2), 86–94.

**Denisow, B., & Denisow-Pietrzyk, M. (2016).** Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303–4309.

**Dreywood, R. (1946).** Qualitative Test for Carbohydrate Material. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 18(8), 499–499.

## E

**Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., & Lee, L.-H. (2015).** *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284–293.

## F

**Fatrcová-Šramková, K., Nůžková, J., Kačániová, M., Máriássyová, M., Rovná, K., & Stričík, M. (2013).** Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48(2), 133–138.

**Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Máriássyová, M., & Kačániová, M. (2016).** Biologically active antimicrobial and antioxidant substances in the *Helianthus annuus* L. bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(3), 176–181.

**Fuenmayor, C. B., Zuluaga, C. D., Díaz, C. M., Quicazán de, M. C., Cosio, M., & Mannino, S. (2014).** Evaluation of the physicochemical and functional properties of Colombian bee pollen Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del polen apícola colombiano. *Rev.MVZ Córdoba*, 19(1), 4003–4014.

## G

**Gamez, E. J. C., Luyengi, L., Sang Kook Lee, Zhu, L. F., Zhou, B. N., Fong, H. H. S., Pezzuto, J. M., & Kinghorn, A. D. (1998).** Antioxidant flavonoid glycosides from *Daphniphyllum calycinum*. *Journal of Natural Products*, 61(5).

**Gan, Z., Ellis, P. R., & Schofield, J. D. (1995).** Gas Cell Stabilisation and Gas Retention in Wheat Bread Dough. *Journal of Cereal Science*, 21(3), 215–230.

**Geil, P. B., & Anderson, J. W. (1994).** Nutrition and health implications of dry beans: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 13(6).

**Ghoshal, K. P., & Saoji, A. A. (2013).** Phytochemical Screening of the Pollen of some selected plants with antidiabetic properties. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(7).

**Goupy, J., & Creighton, L. (2006).** Introduction Aux Plans d'Expériences 5e édition. *Dunod*.

**Greuter, T., Wilhelmi, M., Studerus, D., Harr, T., & Vavricka, S. R. (2020).** Maladies liées au gluten. *Forum Médical Suisse – Swiss Medical Forum*.

## H

**H Habiyaremye, C., Matanguihan, J. B., D'Alpoim Guedes, J., Ganjyal, G. M., Whiteman, M. R., Kidwell, K. K., & Murphy, K. M. (2017).** Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) and its potential for cultivation in the Pacific Northwest, U.S.: A review. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 7).

**Harif Fadzilah, N., Jaapar, M. F., Jajuli, R., & Wan Omar, W. A. (2017).** Total phenolic content, total flavonoid and antioxidant activity of ethanolic bee pollen extracts from three species of Malaysian stingless bee. *Journal of Apicultural Research*, 56(2), 130–135.

Hui, Y. H., Corke, H., Leyn, I. De, Nip, W. K., & Cross, N. (2007). Bakery Products: Science and Technology. In *Bakery Products: Science and Technology*.

I

Inglett, George. E., Chen, D., & Liu, Sean. X. (2016). Physical Properties of Gluten Free Sugar Cookies Containing Teff and Functional Oat Products. *Journal of Food Research*, 5(3).

Izuta, H., Shimazawa, M., Tsuruma, K., Araki, Y., Mishima, S., & Hara, H. (2009). Bee products prevent VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9.

J

Jacob, A. A., Fidelis, A. E., Salaudeen, K. O., & Rukayat Queen, K. (2013). Sorghum: Most under-utilized grain of the semi-arid Africa. *Scholarly Journal of Agricultural Science*, 3(4).

K

Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błażej, S., Chlebowska-Śmigiel, A., & Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 170–180.

Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee pollen: Chemical composition and therapeutic application. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2015).

Kostić, A., Milinčić, D. D., Barać, M. B., Shariati, M. A., Tešić, Ž. L., & Pešić, M. B. (2020). The application of pollen as a functional food and feed ingredient—the present and perspectives. In *Biomolecules* (Vol. 10, Issue 1). MDPI AG.

Krystijan, M., Gumul, D., Ziobro, R., & Sikora, M. (2015). The Effect of Inulin as a Fat Replacement on Dough and Biscuit Properties. *Journal of Food Quality*, 38(5), 305–315.

Kucek, L. K., Veenstra, L. D., Amnuaycheewa, P., & Sorrells, M. E. (2015). A grounded guide to gluten how modern genotypes and processing impact wheat sensitivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(3).

## L

**Laaroussi, H., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Bakour, M., Ousaid, D., El Ghouzi, A., Teixeira, J. A., & Lyoussi, B. (2023).** Unveiling the techno-functional and bioactive properties of bee pollen as an added-value food ingredient. *Food Chemistry*, 405.

**LAlliance. (2018).** *Charte Professionnelle des Fabricants de Biscuits et Gâteaux de France*.

**Lanata, M. C., Patrignani, M., Puppo, M. C., & Conforti, P. A. (2022).** Quality evaluation of gluten-free biscuits prepared with algarrobo flour as a partial sugar replacer. *Open Agriculture*, 7(1), 323–334.

**Latifou Iagnika. (2005).** Etude Phytochimique Et Activite Biologique De Substances Naturelles Isolees De Plantes Beninoises. *These*.

**Lezine A.M. (2011).** Introduction à la Palynologie. Edit, Société Géologie Nancy, France.

**Llnskens, H. F., & Jorde, W. (1997).** Pollen as food and medicine—A review. *Economic Botany*, 51(1), 78–86.

**Lotfi Gaouar, Z., Besseghir, F. Z., Gharbi, M., & Kecir, I. (2022).** Additifs alimentaires : Inventaire des substances ajoutées aux denrées alimentaires de large consommation dans l'Ouest algérien. *Journal de La Faculté de Médecine d'Oran*, 6(2).

**Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978).** Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 59(4).

**Lucini Mas, A., Brigante, F. I., Salvucci, E., Pigni, N. B., Martinez, M. L., Ribotta, P., Wunderlin, D. A., & Baroni, M. V. (2020).** Defatted chia flour as functional ingredient in sweetcookies. How do Processing, simulated gastrointestinal digestion and colonic fermentation affect its antioxidant properties? *Food Chemistry*, 316.

## M

**Mmahmoudi, K. E. M. (2013).** Etude de l' extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d' artichaut ( *Cynara scolymus L.* ). *Nature & Technologie*.

**Makhloufi, C., Kerkvliet, D., Ricciardelli-D'albore, G., Choukri, A. et Samar, R. (2010).** Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41: 509-521.

**Mamat, H., & Hill, S. E. (2018).** Structural and functional properties of major ingredients of biscuit. In *International Food Research Journal* (Vol. 25, Issue 2).



**Mancebo, C. M., Picón, J., & Gómez, M. (2015).** Effect of flour properties on the quality characteristics of gluten free sugar-snap cookies. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 264-269.

**Manley, D. (2011).** Setting the scene: A history and the position of biscuits. *Manley's Technology of Biscuits, Crackers and Cookies: Fourth Edition*, 1–9.

**Marchini, L. C., Reis, V. D. A. D., & Moreti, A. C. D. C. C. (2006).** Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. *Ciência rural*, 36, 949-953.

**Marero, L. M., Payumo, E. M., Librando, E. C., Lainez, W. N., Gopez, M. D., & Homma, S. (1988).** Technology of Weaning Food Formulations Prepared from Germinated Cereals and Legumes. *Journal of Food Science*, 53(5).

**Masoodi, L. (2012).** Fortification of Biscuit with Flaxseed: Biscuit Production and Quality Evaluation. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 1(5).

**Mayda, N., Özkök, A., Ecem Bayram, N., Gerçek, Y. C., & Sorkun, K. (2020).** Bee bread and bee pollen of different plant sources: determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4).

**Mefleh, M. (2021).** Cereals of the mediterranean region: Their origin, breeding history and grain quality traits. In *Cereal-Based Foodstuffs: The Backbone of Mediterranean Cuisine*.

**Mieszkowska, A., & Marzec, A. (2015).** Structure Analysis of Short-Dough Biscuits and Its Correlation with Sensory Discriminants. *Journal of Texture Studies*, 46(5), 313–320.

**Mohammed, I., Ahmed, A. R., & Senge, B. (2014).** Effects of chickpea flour on wheat pasting properties and bread making quality. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9).

**Morais, M., Moreira, L., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2011).** Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1096–1101.

**Moreno, M. de L., Rodríguez-Herrera, A., Sousa, C., & Comino, I. (2017).** Biomarkers to monitor gluten-free diet compliance in celiac patients. In *Nutrients* (Vol. 9, Issue 1).

**Motawei, A., Hussien, M. M., & Yousef, E. (2022).** Preparation of Gluten Free Biscuits from Quinoa, Rice and Chickpeas for Celiac Disease Patients. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 13(3).

**Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O., & Aguilera, J. M. (2013).** Chia Seed (*Salvia hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food. *Food Reviews International*, 29(4).

## N

**Nani, A., Belarbi, M., Ksouri-Megdiche, W., Abdoul-Azize, S., Benammar, C., Ghiringhelli, F., Hichami, A., & Khan, N. A. (2015).** Effects of polyphenols and lipids from *Pennisetum glaucum* grains on T-cell activation: Modulation of Ca<sup>2+</sup> and ERK1/ERK2 signaling. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1).

**Necheporuk, A. G., Tretyakova, E. N., Danilin, S. I., Toporkova, K. I., & Pershikova, A. G. (2021).** Gluten-free products from chickpea flour. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 845, Issue 1). IOP Publishing Ltd.

## O

**Oliveira, K. C. L. S., Moriya, M., Azedo, R. A. B., De Almeida-Muradian, L. B., Teixeira, E. W., Alves, M. L. T. M. F., & Moreti, A. C. D. C. C. (2009).** Relationship between botanical origin and antioxidants vitamins of bee-collected pollen. *Quimica Nova*, 32(5).

**OUNANE, G., & AUTRAN, J. (2001).** Essai de fabrication de pâtes alimentaires supplémentées par de la farine, isolat et concentrat protéique de pois chiche.

## P

**Paciulli, M., Rinaldi, M., Cavazza, A., Ganino, T., Rodolfi, M., Chiancone, B., & Chiavaro, E. (2018).** Effect of chestnut flour supplementation on physico-chemical properties and oxidative stability of gluten-free biscuits during storage. *LWT*, 98.

**Phimolsiripol, Y., Mukprasirt, A., & Schoenlechner, R. (2012).** Quality improvement of rice-based gluten-free bread using different dietary fibre fractions of rice bran. *Journal of Cereal Science*, 56(2).

**Polimac, M., & Komlenić, D. K. (2015).** Acorn flour - Naturally Gluten free. *Proceedings of the 8th International Congress FLOUR-BREAD 2015 - 10th Croatian Congress of Cereal Technologists.*

**Polimac, M., Komlenić, D. K., & Lukinac, J. (2015).** Possibilities of using acorn flour in products based on flour. *Proceedings of the 8th International Congress FLOUR-BREAD 2015 - 10th Croatian Congress of Cereal Technologists.*

## Q

**Qadir, N., & Wani, I. A. (2023).** Functional properties, antioxidant activity and in-vitro digestibility characteristics of brown and polished rice flours of Indian temperate region. *Grain & Oil Science and Technology*, 6(1), 43–57.

**Queroz, M. De. (1991).** Sorghum and millets in human nutrition. In *Science* (Issue 27).

## R

**Rai, S., Kaur, A., & Singh, B. (2014).** Quality characteristics of gluten free cookies prepared from different flour combinations. *Journal of Food Science and Technology*, 51(4).

**Ramadan, M. F. (2010).** Rapid antiradical method for screening deep fried oils. *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit*, 5(1).

**Rodriguez-Amaya, D. B. (2001).** A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. In *Life Sciences*.

**Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Sobczak, A., Stojko, R., & Buszman, E. (2015).** Polyphenol content and antioxidant activity of bee pollen extracts from Poland. *Journal of Apicultural Research*, 54(5).

## S

**Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M., & Toth-Markus, M. (2005).** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8–9), 1023–1029.

**Serra Bonvehi, J., Soliva Torrentó, M., & Centelles Lorente, E. (2001).** Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4).

**Siddiq, M., Ravi, R., Harte, J. B., & Dolan, K. D. (2010).** Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *LWT - Food Science and Technology*, 43(2), 232–237.

**Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999).** Methods in Enzymology - Oxidants and Antioxidants Part A. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.

**Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3).

**Siyuan, S., Tong, L., & Liu, R. H. (2018).** Corn phytochemicals and their health benefits. In *Food Science and Human Wellness* (Vol. 7, Issue 3).

**Smith, B. M., Bean, S. R., Herald, T. J., & Aramouni, F. M. (2012).** Effect of HPMC on the Quality of Wheat-Free Bread Made from Carob Germ Flour-Starch Mixtures. *Journal of Food Science*, 77(6).

**Sterna, V., Zute, S., & Brunava, L. (2016).** Oat Grain Composition and its Nutrition Benefice. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 8, 252–256.

#### T

**Tireki, S. (2008).** Technology of cookie production. In *Food Engineering Aspects of Baking Sweet Goods*.

#### W

**Wilhelmi, M., Dolder, M., & Tutuian, R. (2014).** FODMAP – cause fréquente de douleurs abdominales d'étiologie indéterminée. *Forum Médical Suisse – Swiss Medical Forum*, 14(48).

#### Y

**Yan, S., Wan, Y., Wang, F., Xue, X., & Wu, L. (2021).** Fortification of bread with bee pollen, and its effects on quality attributes and antioxidant activity. *International Food Research Journal*, 28(3), 517–526.

**Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J., & Sun, P. (2013).** Characterization of Chemical Composition of Bee Pollen in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(3), 708–718.

**Yapi, JC, Deffan, ZAB, Koko, AC, Diabagate, JR, Kouamekan, KB et Kouame, LP (2021).** Influence de la granulométrie physicochimique sur les caractéristiques et technofonctionnelles des farines de souchet (*Cyperus esculentus* L.). *Agronomie Africaine* , 33 (2), 239-250.

**Z**

**Zhu, F. (2018).** Chemical composition and food uses of teff (*Eragrostis tef*). In *Food Chemistry* (Vol. 239).

## Organismes de normalisation

**Journal officiel de la république algérienne** N° 70. 2, 24 Ramadhan 1425. 7 novembre (2004).

**Journal officiel de la république algérienne** N° 35, 28 Chabane 1434, 7 juillet (2013).

**Journal officiel de la république Algérienne** N° 39, 08 Chaoual 1438, 2 juillet (2017).

**NM ISO (2008)**. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes — Technique de comptage des colonies à 30 °C. NM ISO 4833. (IC08.4.102).

**NM ISO (2009)**. Microbiologie des aliments — Dénombrement des coliformes thermo tolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C. NM 08.0.124.

# **Annexes**

**Annexe 01 :** Préparation des farines de riz et de pois chiche, poudre de pollen d'abeille.



Broyage.



Tamisage (tamiseur de maille lumineuse de 0,40 mm).



A B C

Conditionnement des trois échantillons du pollen d'abeille broyés  
A : pollen de Bejaïa, B : pollen de Djelfa, C : pollen de Guelma.



Conditionnement des farines et la poudre du pollen.

**Figure 01 :** Préparation des farines.



## Annexe 02 : Analyses physico-chimiques.



Figure 02 : Détermination du taux de cendres.



Figure 03 : Extraction des composés phénoliques du pollen d'abeille.



**Figure 04 :** Extraction de la matière grasse des échantillons à l'aide d'un appareil de type soxhlet.

**Annexe 03 : Préparation des réactifs****• Préparation de réactif Bradford (100 ml) :**

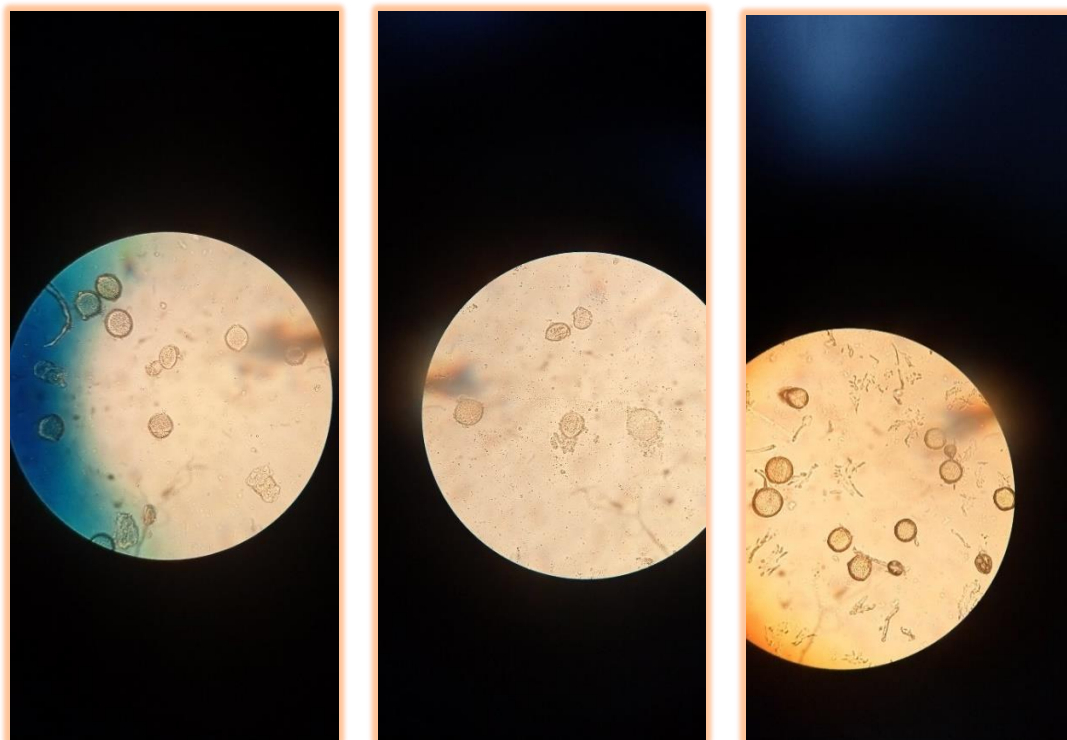
- Peser 10 mg de bleu de Coomassie brillant.
- Incorporer 5mL d'éthanol à 95%, puis laissez-le absorber jusqu'à ce qu'il se dissolve complètement.
- Incorporer 10mL d'acide phosphorique à 85%.
- Ajuster le volume à 100 ml.
- Effectuer un filtrage avant l'usage.

NB : N'oubliez pas de couvrir avec du papier aluminium avant de le placer dans un flacon opaque.

**• Préparation de réactif Carrez I et Carrez II**

- Solution de Carrez I : dissoudre 21,9 g d'acétate de zinc se déshydraté dans de l'eau, ajouter 3 g d'acide acétique glacial et diluer à 100 ml avec de l'eau.
- Solution de Carrez II : dissoudre 10,6 g de ferrocyanure de potassium dans de l'eau et diluer à 100 ml.

## Annexe 04 : Analyses polliniques.



1

2

3

**Figure 05 :** Observation sous microscope optique les pollens.

(1) : pollen d'abeille de la wilaya de Guelma ;

(2) : pollen d'abeille de la wilaya de Bejaia ;

(3) : pollen d'abeille de la wilaya de Djelfa.

## Annexe 05 : Formulation de biscuit.



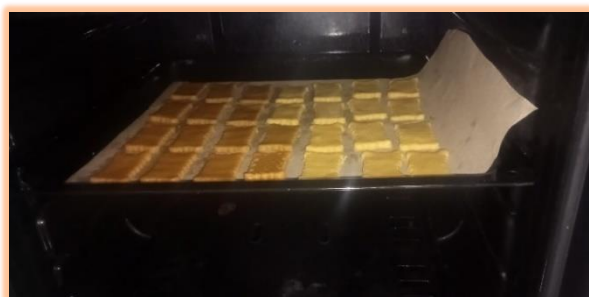
1- Préparation des ingrédients.



2- pétrissage.



3 - Moulage de la pâte.



4- cuisson.



5- Refroidissement à T° ambiante.

Figure 06 : Étapes de formulation des biscuits.

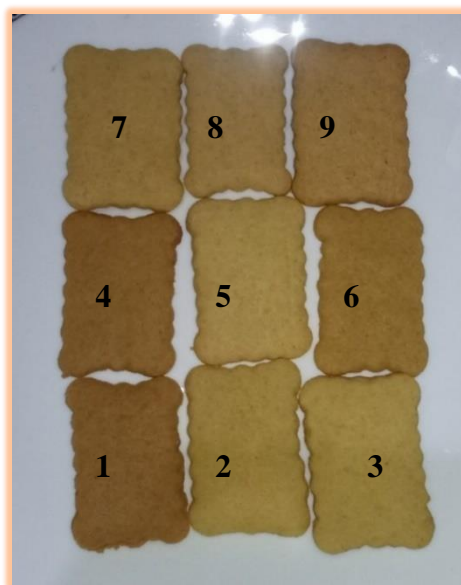


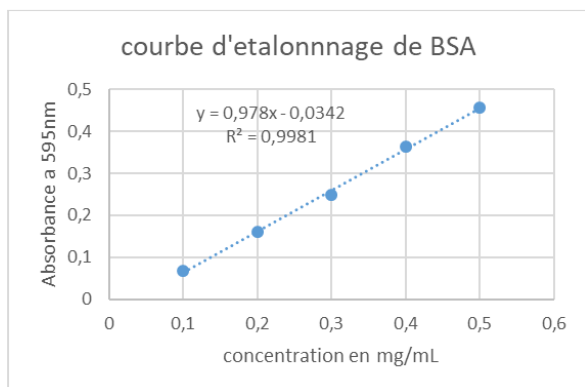
Figure 07 : Biscuits formulés (la numérotation correspond au numéro de la recette de biscuit).

Annexe 06 :

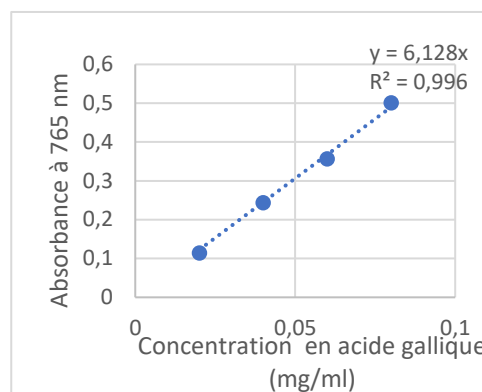


Figure 08 : Analyses microbiologiques.

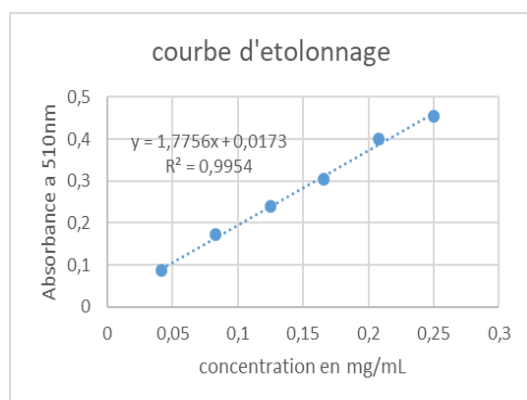
## Annexe 07 :



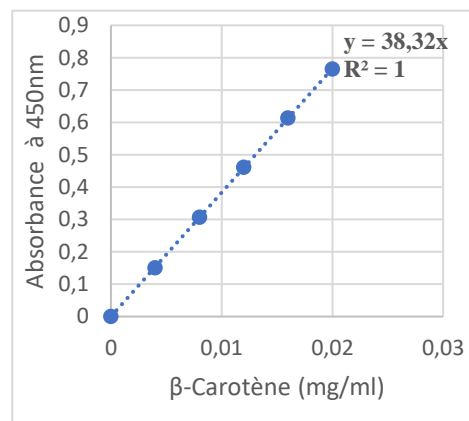
Courbe d'étalonnage des protéines.



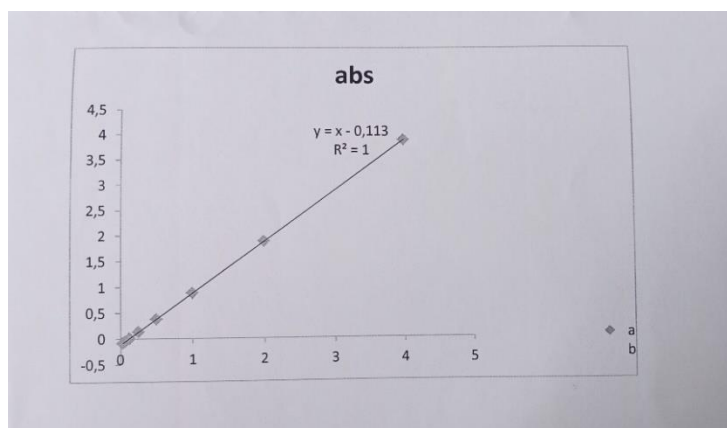
Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.



Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



Courbe étalonnage des caroténoïdes.



Courbe d'étalonnage des sucres.

Figure 09 : Courbes d'étalonnage.

**Annexe 08 :**

**Tableau I :** Résultats des analyses microbiologique effectuée pour les 9 formulations de biscuits.

<b>Germes recherchés</b>	<b>Formulations de biscuits</b>
<b>Germes aérobies à 30 °</b>	Absence
<b>Escherichia coli</b>	Absence
<b>Moisissures et levures</b>	< 30 colonies de moisissures et de levures /g de biscuits
<b>Staphylocoques à coagulase +</b>	Absence
<b>Salmonella</b>	Absence



Annexe 09 : Fiche de dégustation des biscuits.

## Fiche de dégustation des biscuits

Nom et Prénom : ..... Age : .....

Sexe :  femme  homme

Neuf (09) échantillons de biscuits codés vous sont présentés : 107, 269, 300, 183, 216, 155, 265, 120, 611. Il vous est demandé d'évaluer les différentes caractéristiques organoleptiques en attribuant à chacun une appréciation selon l'intensité de chaque caractère.

1/ L'aspect visuel :

Les échantillons	Aspect visuel				
	Pas attirant	Peu attirant	Moyennement attirant	Attirant	Très attirant
107					
269					
300					
183					
216					
155					
265					
120					
611					

2/ La couleur :

Les échantillons	Intensité de la couleur				
	Très claire	Claire	Peu foncée	Foncée	Très foncée
107					
269					
300					
183					

216					
155					
265					
120					
611					

## 3/ L'odeur :

Les échantillons	Intensité de l'odeur				
	Très faible	Faible	Moyenne	Forte	Très forte
107					
269					
300					
183					
216					
155					
265					
120					
611					

## 4/ Le goût :

Les échantillons	Appréciation du goût				
	Très désagréable	Désagréable	Acceptable	Agréable	Très agréable
107					
269					
300					
183					
216					
155					
265					
120					
611					

## 5/ Consistance en bouche :

Les échantillons	Intensité de la consistance en bouche				
	Très pâteux	Pâteux	Peu croustillant	Croustillant	Très croustillant
107					
269					
300					
183					
216					
155					
265					
120					
611					

## 6/ La texture en bouche :

Les échantillons	Intensité de l'analyse				
	Très granuleux	Granuleux	Pue Granuleux	Lisse	Très Lisse
107					
269					
300					
183					
216					
155					
265					
120					
611					

## 7/ L'intensité de gout sucré :

Les échantillons	Intensité du gout sucré				
	Pas de tout sucré	Peu sucré	Moyennement sucré	Sucré	Très sucré
107					
269					
300					
183					
216					
155					
265					
120					
611					

## 8/ Arrière-goût :

Les échantillons	Intensité de l'arrière-goût				
	Absence	Faible	Moyenne	Forte	Très forte
107					
269					
300					
183					
216					
155					
265					
120					
611					

**9/ Appréciation globale :**

Attribuez pour chaque échantillon une note de préférence globale des différents échantillons analysés entre 1 et 9, sachant que le numéro 1 correspond à l'échantillon le moins préféré et le numéro 9 à celui le plus préféré.

<b>107</b>	<b>269</b>	<b>300</b>	<b>183</b>	<b>216</b>	<b>155</b>	<b>265</b>	<b>120</b>	<b>611</b>

Merci pour votre participation 😊

**Annexe 10 :****Tableau II : Résultats de l'analyse sensorielle des biscuits formulés.**

<b>Formulation</b>	<b>Aspect visuel</b>	<b>Couleur</b>	<b>Odeur</b>	<b>Goût</b>	<b>Constance en bouche</b>	<b>Texteur en bouche</b>	<b>Intensité de gout sucré</b>	<b>Arrière-gout</b>	<b>Appréciation globale</b>
<b>1</b>	1.6	4.6	3.3	2.3	1.8	3.3	3.3	3.7	3.9
<b>2</b>	3	1.9	2.3	3.3	3.3	3	3.4	2.6	6.1
<b>3</b>	3.2	2.5	2.7	3.4	4.5	2.5	3.4	2.2	6.6
<b>4</b>	1.7	4.6	3.5	2.5	2.7	3.3	3.3	3.3	4.4
<b>5</b>	3.8	1.9	2.4	3.6	4.5	2.4	3.7	1.8	7.1
<b>6</b>	2	3.5	3.5	2.5	2.8	3.3	3.7	3.1	4.5
<b>7</b>	2.8	3.4	2.7	3	2.4	3	3.4	3.2	5.3
<b>8</b>	3.6	2.6	2.9	4	4.5	2.4	3.2	2.5	7.1
<b>9</b>	3.3	3.8	3.3	3.4	4.9	2.4	3.6	2.3	7

## Annexes

### Annexe 11 :

**Tableau III :** Résultats des analyses physico-chimiques des farines (pois chiche et le riz) et de la poudre de pollen d'abeilles (de Guelma, Bejaia et de Djelfa).

Echantillons	PG	PB	PD	FP	FR
<b>Paramètres</b>					
<b>Teneur en lipides (%)</b>	2.67	4.19	6.6	4.14	1.9
<b>Protéines (mg EBSA/ 100g)</b>	8621±41	16188±96	11539±101	8307±187	2585±35
<b>Polyphénols (mg EAG/g d'ES)</b>	9.59±0.18	12.3±0.04	8.97±0.13	0.60±0.01	0.28±0.04
<b>Flavonoïdes (mg EQ/g d'ES)</b>	10.17±0.19	12.71±0.93	5.95±0.69	4.15±0.18	1.28±0.55
<b>Sucres totaux (mg/g)</b>	172.57±0.43	152.7±0.5	125.2±0.8	92.2±0.6	13.76±0.6

**Tableau IV :** Résultats de l'évaluation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de pollen étudiés.

Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition (%)		
	PD	PB	PG
<b>0.003</b>	11.61±0.64	22.79±0.16	8.81±1.06
<b>0.068</b>	15.18±0.76	32.47±1.09	28.4±0.91
<b>0.172</b>	24.07±1.22	50.5±1.33	35.14±0.76
<b>0.275</b>	41.86±0.91	70.5±1.07	58.78±0.46
<b>0.412</b>	57.91±0.15	72.2±0.28	71.18±0.91
<b>0.550</b>	70.28±0.45	76.9±0.14	73.53±0.31
<b>0.688</b>	75.05 ±0.45	78.2±1.05	74.62±0.77

**Tableau V** : Résultats des  $IC_{50}$  des extraits de pollen.

<b>Extraits</b>	<b>PG</b>	<b>PB</b>	<b>PD</b>
<b><math>IC_{50}</math> (mg/ml)</b>	0.30	0.20	0.38



## Résumé

Le présent travail consiste à enrichir un biscuit sans gluten (farines de pois chiche et de riz) avec du pollen d'abeille à raison de 0 à 5% pour améliorer sa qualité nutritionnelle et organoleptique. Le pollen monofloral de la wilaya de Bejaia a été sélectionné après avoir évalué la composition nutritionnelle du pollen de trois de wilayas (Bejaia, Guelma et Djelfa). Il est riche en protéines ( $161.88 \pm 96$ g EBSA/100g), en caroténoïdes ( $0.10 \pm 0.009$  mg/g) et en minéraux (2.18 %). En outre, il présente une forte activité antioxydante, le  $IC_{50}$  étant de 0.2015 mg/ml en raison de sa richesse en composés phénoliques ( $12.3 \pm 0.04$  mg EAG/g d'ES) et en flavonoïdes ( $12.71 \pm 0.93$  mg EQ/g d'ES). Les analyses microbiologiques effectuées sur les biscuits formulés ont été conformes aux normes et selon le panel expert d'analyse sensorielle, les biscuits les plus appréciés sont ceux enrichis à 0.55% (formulation 8) et à 3.025% (formulation 9). Les analyses physico-chimiques de ces derniers ont montré un enrichissement en termes de composés phénoliques, flavonoïdes et caroténoïdes.

**Mots-clés :** biscuits, pollen d'abeille, produit sans gluten, qualité organoleptique, qualité nutritionnelle.

## Abstract

This current work is designed to assess the enrichment of a gluten-free biscuit (chickpea and rice flour) with bee pollen at 0 to 5% to improve its nutritional and organoleptic quality. The monofloral pollen from Bejaia was selected after evaluating the nutritional composition of three pollens from different areas (from Bejaia, Guelma and Djelfa). It was high in protein ( $161.88 \pm 96$ g EBSA/100g), carotenoids ( $0.10 \pm 0.009$  mg/g) and minerals (2.18%). In addition, it exhibits strong antioxidant activity, the  $IC_{50}$  being 0.2015 mg/ml due to its richness in phenolic compounds ( $12.3 \pm 0.04$  mg EAG/g of DW) and flavonoids ( $12.71 \pm 0.93$  mg EQ/g of DW). The microbiological analyzes carried out on the formulated biscuits complied with standards and according to the expert sensory analysis panel, the most popular biscuits are those enriched at 0.55% (formulation 8) and 3.025% (formulation 9). Physic-chemical analyzes of the latter showed enrichment in terms of phenolic compounds, flavonoids and carotenoids.

**Keywords:** biscuits, bee pollen, gluten-free product, organoleptic quality, nutritional quality.