

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 : Biologie Physico-chimique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale



Réf.....

Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention du diplôme de

Master

Thème :

*Propriétés antioxydantes du
pollen*

Présenté par :

M^{elle} Hamchaoui Rym et M^{me} Ziani Nadjat

Soutenu le 15/06/2023

Membres de jury composés de :

Promoteur	M. ZAIDI Hicham	MAA	U.A.M.Bejaia
Président	Mme MOULAOUI Kenza	MCA	U.A.M.Bejaia
Examinatrice	Mme AMIR Hassiba	MAA	U.A.M.Bejaia

Année Universitaire : 2022-2023

Remerciements

Tous d'abord, nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent à ALLAH le tout puissant qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui, et nous avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Ensuite, nos remerciements vont à notre promoteur M. ZAIDI. H qui nous a guidé dans notre travail, merci de nous avoir accordé son temps, merci d'avoir été très patient avec nous.

Nous tenons à présenter nos remerciements aux membres de jury qui ont accepté de juger notre travail.

Nous voudrions exprimer nos remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, sans oublier nos chères familles.



- H.Rym & Z.Nadjat -

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à

A ma tendre mère et mon très cher père qui m'ont soutenue et encouragée durant ces années d'étude.

A mes deux petits frères Ramy et Racha.

A mon cher fiancé Ayoub pour son amour, son assistance morale et ses conseils.

A mes grands-parents maternels, que le paradis soit votre demeure éternelle.

A mes deux tantes Nabila et Hania

A ma chère binôme Nadjat qui a été là tout au long de ce modeste projet. Merci pour ton écoute, pour ta confiance, pour tes conseils et pour cette amitié qui est si facile entre nous.

 *H.Rym-*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes parents, qui m'ont toujours soutenue et encouragée.

Votre amour inconditionnel et votre soutien m'ont permis d'atteindre mes objectifs et de devenir la personne que je suis aujourd'hui. Merci d'être toujours là pour moi.

A mon mari, qui est mon rocher et mon meilleur ami. Ton amour et ton soutien m'ont donné la force de poursuivre mes rêves et de réaliser mes objectifs. Je suis tellement reconnaissante de t'avoir dans ma vie.

A mes deux sœurs chabha et saloua et mes deux frères azzedine et riad, qui ont toujours été là pour moi, peu importe les circonstances. Votre amour, votre soutien et votre amitié sont inestimables pour moi. Je vous aime tous beaucoup.

A ma belle famille, qui m'a accueillie dans leur famille avec les bras ouverts. Votre amour et votre soutien ont été un cadeau incroyable pour moi. Je suis tellement reconnaissante de vous avoir dans ma vie.

À ma binôme préférée, je suis tellement reconnaissante pour tout le travail acharné que nous avons accompli ensemble. Merci d'avoir été là pour moi tout au long de ce projet. Cette réussite est également la tienne. Merci pour ton amitié et ton soutien.

 - Z.Nadjat -

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction Générale 1

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur le pollen 3

I.1.1. Définition 3

I.1.2. Structure du pollen 3

I.1.3. Pollinisation..... 4

I.1.4. Récolte du pollen 4

I.1.5. Composition chimique 4

I.1.6. Conservation 6

I.1.7. Propriétés pharmacologiques 6

I.2. Activité antioxydante 6

I.2.1. Radicaux libres 6

I.2.2. Stress oxydatif 7

I.2.3. Antioxydants 8

I.2.3.1. Définition 8

I.2.3.2. Classification 9

I.2.3.2.1. Système antioxydant enzymatique 9

I.2.3.2.2. Système antioxydant non enzymatique 9

I.2.4. Métabolites secondaires 10

I.2.4.1. Définition 10

I.2.4.2. Classification des métabolites secondaires 10

I.2.4.3. Composés phénoliques..... 10

I.2.4.3.1. Acides phénoliques 11

I.2.4.3.2. Flavonoïdes 11

I.2.4.3.3. Tanins..... 11

I.2.4.3.4. Caroténoïdes 11

I.2.4.4. Saponines 12

Sommaire

Chapitre II

Matériel et méthodes

Introduction	14
II.1. Echantillonnage	14
II.1.1. Préparation de l'extrait éthanolique du pollen.....	14
II.2. Dosage des antioxydants	15
II.2.1. Dosage des composées phénoliques totales.....	15
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	15
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante	15
II.3.1. Activité anti-radicalaire DPPH.....	15
II.3.1.1. Activité anti-radicalaire ABTS	16
II.3.2. Pouvoir réducteur	17
II.3.3. Test de FRAP	17
II.3.4. Phosphomolybdate.....	17
II.3.5. Dosage des protéines.....	17
III. Chapitre III	19
Résultats et discussion	19
III.1. Résultats de dosage des antioxydants.....	20
III.1.1. Les composés phénoliques totaux.....	20
III.1.2. Les flavonoïdes	20
III.2. Résultats de dosage de l'activité antioxydante	21
III.2.1. Activité anti-radicalaire DPPH.....	21
III.2.2. Activité anti-radicalaire ABTS	21
III.2.3. Pouvoir réducteur	21
III.2.4. Test de FRAP.....	22
III.2.5. Phosphomolybdate	22
III.2.6. Dosage des protéines	22
Conclusion Générale	23
Références bibliographiques	25
Annexes.....	32

Liste d'abréviation

Liste d'abréviation

ABTS : 2,2-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique

Abs : Absorbance

AG : Acide gallique

BSA : Bovine Serum Albumin

CPT : Composés phénoliques totaux

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl

FRAP : Ferric reducing antioxydant power

Na₂HPO₄ : Disodium phosphate

TCA : Acide Trichloracétique

RL : Radical libre.

SO : stress oxydatif

SOD : Super oxyde dismutase.

Q : Quercitine

Liste des tableaux

Tableau1 I.1 : Principaux radicaux libres avec leurs formules chimiques.....	7
Tableau1 I.2: Différents types des antioxydants.....	9
Tableau1 III.1: La teneur en antioxydants de l'échantillon.....	20
Tableau1 III.2: Activité antioxydante de l'échantillon.....	21

Liste des figures

Figure 1 : Schéma d'une coupe transversal d'un grain de pollen (**Prieu, 2015**)..... 3

Figure 2 : Composition moyenne du pollen d'abeille (**Berry, 2015**)..... 5

Figure 3 : Echantillon de pollen analysé 14

Figure 4 : L'extrait de pollen..... 14

Introducción General

Introduction Générale

Au cours de vie la de toutes les espèces végétales, interviennent toujours, à un moment ou l'autre, des éléments de très petite taille, entourés d'une membrane résistante : ce sont les spores ou les grains de pollen (**PONS, 1970**).

Le pollen constitue un aliment essentiel dans le maintien, le développement de la colonie d'abeilles, et l'équilibre de la colonie. Les abeilles récoltent le pollen pour leurs besoins et ceux de leurs jeunes larves (**Meziane, 2006**).

Le pollen d'abeille est une source importante de protéines et contient également des glucides, des lipides, des minéraux, des vitamines, des cendres, de l'eau et d'autres substances (**Tomas-Lorente et al, 1992**). Les pelotes de pollen ont différentes couleurs. Allant du blanc et crème au brun foncé, et les couleurs les plus courantes sont le jaune, l'orange, le vert et le gris. La couleur des pelotes de pollen dépend de l'origine florale et de la composition des pigments lipidique provenant des anthères des fleurs (**Stanley et Linskens, 1974**).

Plusieurs études ont rapporté les vertus de pollen telles que la prévention des problèmes de prostate, la stimulation de l'appétit, sa capacité à réduire la fatigue et la dépression et également son pouvoir à rajeunir la peau et de la fortifier (**Thibault, 2017**).

Le corps humain subit le phénomène d'oxydation, produisant un stress oxydatif. Ce dernier est responsable de l'endommagement des biomolécules (ADN, protéines, glucose et lipides) et donc de l'apparition de diverses maladies telles que le cancer et l'athérosclérose (**Rice-Evans, 1999 ; Favier, 2003**). Pour lutter contre ces radicaux libres nocifs, l'organisme utilise des systèmes de défense antioxydants endogènes (superoxyde dismutase et catalase) et exogènes (apportés par l'alimentation) (**Lien Ai Pham-Huy et al., 2008**) .

Afin d'étudier les propriétés antioxydantes du pollen, le présent travail est divisé en deux parties, la première partie est une synthèse bibliographique où sont exposées les généralités sur le pollen. La deuxième partie, la partie pratique, est scindée en deux sections dont la première décrit le matériel et les méthodes utilisés, la seconde est réservée pour les résultats obtenus et la discussion.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur le pollen

I.1.1. Définition

Le pollen est l'élément mâle de la fleur ; il se présente en très fine poussière, diversement colorée, selon son espèce, du blanc le plus pur au noir le plus intense. Mais, en majorité, le pollen est jaune ou marron clair. De saveur généralement amère, à part quelques variétés sucrées. Il laisse dans la bouche un arrière-goût, auquel on s'habitue facilement. On distingue deux sortes de pollen : ceux dits pollens anémophiles et tous les autres dénommés pollens entomophiles (caillas, 1968).

I.1.2. Structure du pollen

Les grains de pollen sont produits par millier par les étamines des plantes à fleurs, ce sont des cellules vivantes de forme plus ou moins ovoïde, de diamètres différents. Ils ont une paroi résistante appelée sporoderme. Le sporoderme est constitué de deux couches complexes :

- **L'intine** : La membrane interne des grains de pollen est lisse, uniforme et semi-perméable constituée de pectine, qui peut disparaître rapidement après la mort cellulaire. Elle protège le grain de l'écrasement. (Ducreux G, 2002)
- **L'exine** : La membrane externe des grains de pollen, présente différentes formes propres à chaque espèce de plante à fleur. Elle est constituée de matières grasses, flavonoïdes, et antioxydants insolubles. Elle protège le grain contre le vent, le soleil, les Ultra-violets, la dessiccation et l'oxydation par l'air lors de son transport d'une fleur à une autre (Guerriat H, 2000).

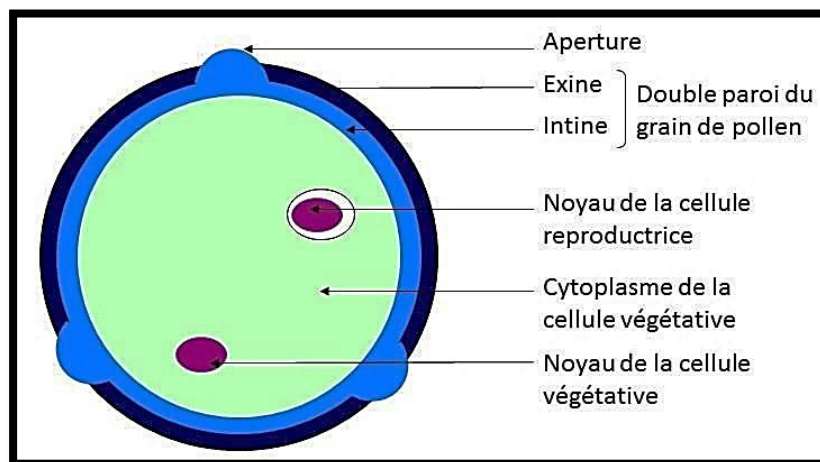


Figure 1 : Schéma d'une coupe transversal d'un grain de pollen (Priou, 2015).

I.1.3. Pollinisation

La pollinisation, c'est quand la fécondation est garantie à la floraison, les anthères s'ouvrent pour libérer le pollen, qui rencontre le stigmate du pistil pour atteindre l'ovaire, elle peut être directe (autopollinisation) ou indirecte (croisement) (**Dondieu, 1983**).

Avant la pollinisation, les fleurs sécrètent du nectar pour attirer les abeilles, et des médiateurs chimiques libérés par les plantes ou les abeilles elles-mêmes attirent et maintiennent les butineuses sur les fleurs à polliniser (**Vaissière, 2006**).

Peu de temps après la fécondation des ovules de la fleur après pollinisation, un nouvel apport de pollinisation est rendu inutile : la sécrétion de nectar cesse et les butineuses abandonnent les fleurs visiteuses (**Vaissière, 2006**).

I.1.4. Récolte du pollen

Les colonies produisent environ 20 à 40 kg de pollen par an (**Bradbear, 2010**). La plupart du pollen est vendu et consommé sous forme de boules, que les abeilles ramènent dans leurs ruches à la recherche de nourriture. Par conséquent, pour collecter ce pollen, les apiculteurs doivent équiper leurs ruches de pièges à pollen. Ces pièges sont des grilles en plastique ou en inox dont les mailles sont suffisamment larges pour le passage des abeilles et suffisamment larges pour retenir les granulés sur les pattes des abeilles lors de leur passage. Ils sont placés à l'entrée ou parfois sous le nid ou sur le dessus du nid. Sous la trappe se trouve un plateau à balles pour attraper les balles. Il doit être bien aéré, mais protégé de l'humidité, et doit être surmonté d'un tamis qui laisse passer les balles mais empêche les abeilles de récupérer les balles (**Bruneau, 2011; Gharbi, 2011**).

Si vous regardez les nids dans lesquels le pollen est stocké, vous pouvez voir qu'ils viennent dans une variété de couleurs. Cela indique que les abeilles de la colonie collectent le pollen d'une grande variété de plantes (même si les abeilles se concentrent sur un type de fleur) (**Bradbear, 2010**).

I.1.5. Composition chimique

La composition du pollen varie non seulement avec les plantes principalement visitées par les abeilles, mais aussi avec leur origine géographique. (**Bogdanov, 2014**) Surtout en ce qui concerne sa teneur en protéines (**Philippe, 1999**).

– **Eau** : La teneur en humidité varie de 3 % à 10 %. Le pollen frais contient plus d'eau que le pollen séché, mais tout dépend des conditions de stockage (**Campos et al., 2008**).

- **Lipides** : Il existe peu d'études sur les lipides du pollen. La composition en matières grasses du pollen présente des différences considérables selon l'origine de la plante. Il contient principalement des graisses polaires et neutres et de petites quantités d'acides gras et varie de 1 à 13 %. Les lipides sont des composants importants du pollen d'abeille (**Thakur et Nanda, 2020**).
- **Glucides**: La plupart des glucides sont du glucose et du fructose provenant du nectar utilisé pour former les boules, une minorité étant constituée d'autres sucres et d'amidons (**Blanc., 2010**).
- **Protéines** : Les protéines sont le composant le plus important du pollen après les glucides. Ils couvrent les besoins nutritionnels des abeilles. Ils varient considérablement dans le pollen collecté à partir de différentes sources végétales. Les proportions de protéines essentielles au fonctionnement du corps humain varient de 10 à 40 % (**Thakur et Nanda, 2020**).
- **Vitamines** : Les vitamines du groupe B sont les plus abondantes dans le pollen, la vitamine C, la vitamine E (tocophérols) et la provitamine A (β -carotène) (**Donadieu, 1983**).
- **Les composés phénoliques** : Les polyphénols contenus dans le pollen sont très abondants. Ce sont des polyphénols à chaîne courte comme les flavonoïdes (**Arràez-Romàn et al., 2007**).
- **Autres composés** : Autres oligo-éléments tels que les minéraux présents à l'état de traces (**Campos et al, 2008**).

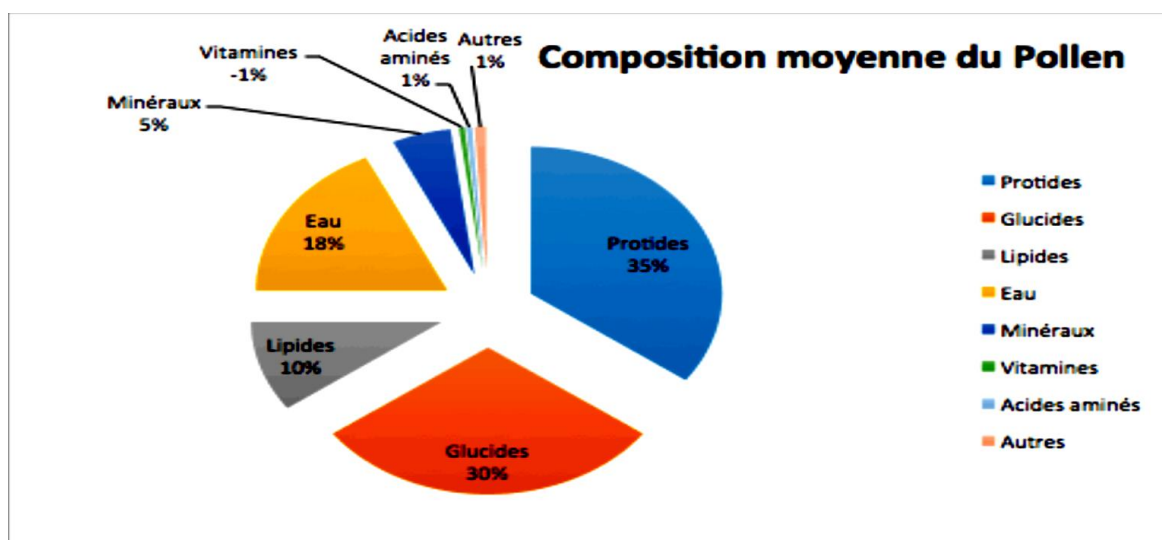


Figure 2 : Composition moyenne du pollen d'abeille (**Berry, 2015**).

I.1.6. Conservation

Avec une teneur en eau de 30 à 40 %, les risques de moisissures sont importants. De plus les nombreuses enzymes, les pigments et les vitamines qui le composent le rendent très sensible à une exposition prolongée à la lumière et à la chaleur. La congélation du pollen préserve les lactoferments détruits lors du chauffage du pollen sec (**Bruneau, 2011**). Pour cela, il doit être récolté deux fois par jour et trié rapidement pour être congelé dans les heures qui suivent. Après décongélation, il sera conservé entre 4 et 8 C° pour être consommé dans les 15 jours (**Clément, 2011**).

I.1.7. Propriétés pharmacologiques

Le pollen d'abeille est considéré comme un aliment santé avec diverses propriétés thérapeutiques, notamment des effets antibactériens, antifongiques, antioxydants, antiradiations, hépatoprotecteurs, chimioprotecteurs et/ou chimiopréventifs et des effets anti-inflammatoires (**Abdella et al., 2009; Bariliak et al., 1996; Viuda-Martos et al., 2008; Fatrcová-Šramková et al., 2013**).

I.2. Activité antioxydante

I.2.1. Radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique possédant, sur sa couche externe, un ou plusieurs électrons célibataires, cet électron lui confère une certaine instabilité et haute réactivité (demi-vie courte) (**Ortiz et al., 2013**). Les espèces radicalaires vont tenter de rattraper leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron (**Afanas'ev, 2009**). A des concentrations physiologiques, les RLs jouent des rôles dans la signalisation, la migration et la différenciation cellulaire (**Ziech et al., 2010**), mais à des concentrations plus élevées, ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose (**Salido et Rosado, 2009**).

Tableau I.1 : Principaux radicaux libres avec leurs formules chimiques.

Les radicaux libres	Structures chimiques
Radical hydroxyle	OH°
Radical hydroperoxyde	HOO°
Radical peroxyde	ROO°
Radical alkoxyde	RO°
Peroxynitrite	ONOO°
Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\circ-}$

I.2.2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif (SO) est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de substances oxydantes qui sont principalement des ERO (espèces réactives de l'oxygène) et leur neutralisation par des antioxydants (**Lemineur et al., 2006**). Le SO est susceptible d'attaquer des cibles cellulaires (lipides, protéines, acides nucléiques) induisant ainsi la formation de produits d'oxydation (**Therond, 2006**). Ces espèces réactives constituent un facteur non spécifique de la genèse de processus inflammatoire et néoplasique. De nombreux agents et substances induisent la production des radicaux libres (UV du soleil, tabagisme, toxines, métaux lourds et bien d'autres agents nocifs), mais ils sont aussi et surtout produits dans l'organisme pendant la respiration cellulaire. La génération de ces radicaux libres est vitale pour la cellule, mais c'est l'exacerbation de cette production qui est délétère. Les dommages cellulaires engendrés peuvent alors être induits par une surproduction des radicaux libres et/ou par un déficit des systèmes antioxydants protecteurs (**Bidri et Choay, 2017**).

Conséquences du stress oxydatif sur les molécules biologiques

• Les protéines

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO peuvent avoir lieu soit sur la chaîne polypeptidique ou /et sur les chaînes latérales, en arrachant un atome d'hydrogène sur le carbone de la liaison peptidique par oxydation de groupement thiol de la protéine, qui

peut dans un deuxième temps subir une oxydation irréversible. Ces modifications toucheront à la fois les protéines de structure, les enzymes et les facteurs de transcription (**Therond, 2006**).

- **Les lipides**

Parmi les espèces réactives de l'oxygène, les radicaux hydroxyles et hydroperoxydes sont les plus réactifs vis-à-vis des acides gras polyinsaturés, ce qu'on appelle la peroxydation lipidique qui consiste en l'arrachement d'un atome d'hydrogène d'un groupement méthylène CH₂ adjacent à deux doubles liaisons, qui se combine ensuite avec l'oxygène pour former un radical peroxy, qui peut arracher un H[•] à un autre donneur RH et créer un nouveau radical ainsi de suite. Ce phénomène est à l'origine des maladies cardio-vasculaires et neurodégénératives (**Therond, 2006**).

- **ADN**

Le radical OH peut s'ajouter sur les doubles liaisons des bases de l'ADN, ou arracher un atome d'hydrogène des groupements méthylés ou des résidus désoxyriboses qui peut aboutir à la formation d'une cassure simple, la formation de 8OXO-dG, possède un fort pouvoir mutagène conduisant à des transversions de type G > T qui seront reproduites en protéines et amplifiées tout au long de la croissance cellulaire aboutissant à des phénomènes de cancérisation (**Therond, 2006**).

I.2.3. Antioxydants

I.2.3.1. Définition

Le terme « antioxydant » a été formulé comme « une substance qui en faible concentration, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels ». **Vansant, (2004)** définit les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques.

Tableau I.2: Différents types des antioxydants.

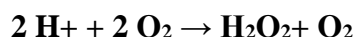
Les antioxydants enzymatiques(endogènes)	Les antioxydants non enzymatiques(alimentaires)
la catalase (CAT)	vitamine C
la glutathion peroxydase (GPx)	vitamine E
la glutathion réductase (GRx)	caroténoïdes
Superoxyde dismutase (SOD)	flavonoïdes

I.2.3.2. Classification

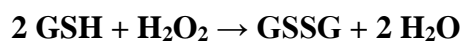
I.2.3.2.1. Système antioxydant enzymatique

Selon **Ait baziz et Chemali (2017)**, les systèmes antioxydants enzymatiques :

Superoxyde dismutase SOD : C'est une métalloprotéine contenant du manganèse, Cuivre et de zinc. Elle élimine le radical superoxyde O_2^- en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).



Glutathion peroxydase: soit par la peroxydase GSH-Px : qui consiste à l'élimination du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le hydroperoxyde lipidique (ROOH), en association avec le glutathion pour donner respectivement une molécule d'eau et (ROH), soit par l'enzyme réductase, par la régénération du glutathion réduit (GHS).



Catalase : Transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en simple molécule d'eau.

I.2.3.2.2. Système antioxydant non enzymatique

Vitamine C : La vitamine C est un excellent piègeur des ERO (HO ou O^{2-}). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques.

Glutathion : Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire, il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (**Berkal et Bouchama, 2016**).

Les caroténoïdes : Leur nom dérive du carotène qui a été isolé pour la première fois de la racine de la carotte, on trouve les caroténoïdes soit sous forme d'hydrocarbures, soit à l'état de dérivés hydroxylés ou dérivés cétoniques (canthaxantine). Les carotènes sont synthétisés par dimérisation de deux molécules de pyrophosphate de géranyl-géranyl-pp. (**Merghem, 2009**) Leur activité antioxydante est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux $O^{\cdot-}$, ROO, HO, par simple addition électrophile et transfert d'électron.

I.2.4. Métabolites secondaires

I.2.4.1. Définition

Le terme «métabolite secondaire» aurait été introduit par Albrecht Kossel en 1891 et est utilisé pour décrire divers composés dans les plantes qui remplissent indirectement des fonctions périphériques essentielles pour la vie végétale, régulation de la communication, défense intercellulaire et cycles catalytiques (**Guillaume, 2008 in Berkal, 2016**).

Les métabolites secondaires (MS) sont présents dans toutes les plantes supérieures et ont une distribution limitée au sein de la plante, dont plus de 200 000 structures ont été définies, montrant une diversité structurale surprenante, mais leur quantité produite est faible. Ces molécules marquent de manière unique une espèce, une famille ou un genre de plantes, permettant éventuellement l'établissement d'une taxonomie chimique (**Hartmann, 2007**).

I.2.4.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les parties des plantes, mais leur distribution dépend de leur fonction. Cette répartition varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires retrouvés dans les plantes, on distingue :

I.2.4.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires répandus dans le règne végétal et présents dans tous les fruits et légumes. Ces composés sont présents

dans toutes les parties de la plante, mais leur distribution quantitative varie d'un tissu à l'autre. Plus de 8 000 structures ont été identifiées, allant de molécules simples comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (**Mumper, 2010**).

I.2.4.3.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques contenant au moins une fonction carboxyle et une fonction hydroxyle phénolique (**Bruneton, 2008**). Les deux principaux groupes d'acides phénoliques sont l'acide hydroxybenzoïque et l'acide hydroxycinnamique, dérivés de l'acide benzoïque C6-C1 et de l'acide cinnamique C6-C3 (**Budic-Leto et Lovric, 2002 ; Wichtel et Anthony, 2009**).

I.2.4.3.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde fait référence à divers composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments végétaux presque universels et sont souvent impliqués dans la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Dans la nature, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme de glycosides (**Ghestem et al., 2001 ; Bruneton, 1999**). D'un point de vue structural, les flavonoïdes ont été classés en plusieurs classes moléculaires, avec plus de 6400 structures identifiées en pratique (**Harborne et Williams, 2000**).

Les flavonoïdes ont une activité antimicrobienne (**Ulanowska et al., 2006**), une activité antifongique (**Ortuno et al., 2006**), une activité anti-inflammatoire (**Park et al., 2008**), une activité contre la peroxydation lipidique et une atteinte hématologique (**Rao et al., 2008 et Vijayakumar, 2008**).

I.2.4.3.3. Tanins

Les tanins sont des composés phytochimiques présents en particulier dans les céréales telles que la caroube, les haricots secs, le thé, le vin, la peau de grenade, le sorgho et l'orge. Ils ont une activité antioxydante très élevée. Structurellement, les tanins sont classés en deux groupes : les tanins condensés (tanins catéchines = proanthocyanidines) et les tanins hydrolysables (**Derbel et Ghedira., 2005**).

I.2.4.3.4. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments foncés liposolubles synthétisés par les plantes et les micro-organismes et présents dans de nombreux aliments, en particulier les fruits, les légumes et le poisson. Ils sont omniprésents dans la nature et ont une grande variété de

fonctions. Les caroténoïdes peuvent interagir avec les radicaux libres de trois manières, soit par transfert d'électrons ou abstraction d'hydrogène, soit par addition d'espèces radicalaires (EL-Agamey et al., 2004). Ils sont considérés comme des antioxydants efficaces. Tous les caroténoïdes ont une structure linéaire (C₄₀H₅₆) avec de nombreuses doubles liaisons. Il existe plusieurs groupes de caroténoïdes, mais le groupe le plus répandu est le β-carotène (provitamine A), présent dans une variété d'aliments tels que les abricots, les melons, les carottes et les légumes verts (Haleng et al. et al., 2007).

I.2.4.4. Saponines

Les saponines sont un grand groupe de glycosides très abondants dans les plantes et se caractérisent par leurs propriétés tensioactives basées sur leur composition en aglycones non polaires attachés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique le comportement moussant en solution aqueuse (Bruneton, 2009).

Chapitre II
Matériel et méthodes

Introduction

A l'instar des études réalisées sur le pollen, le but de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante du pollen d'abeille de la région d'Akfadou de Bejaïa. Cette activité a été évaluée par le biais des tests suivants : pouvoir réducteur, l'activité anti radicalaire du radical libre DPPH et ABTS, test FRAP et le test phosphomolybdat. Avant d'entamer cette évaluation nous avons d'abord préparé l'extrait de notre échantillon.

II.1. Echantillonnage

L'étude a été faite sur un échantillon de pollen d'abeille, récolté en 2023 depuis la région d'Akfadou à la wilaya de Bejaïa. L'échantillon a été conservé à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 3 : Echantillon de pollen analysé

II.1.1. Préparation de l'extrait éthanolique du pollen

Une quantité de 0,5 g de pollen à été ajoutée à 70 ml d'éthanol (80 %). Après agitation pendant 2 h sur une plaque agitatrice, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat obtenu est représenté dans la (figure 07).



Figure 4 : L'extrait de pollen

II.2. Dosage des antioxydants

II.2.1. Dosage des composés phénoliques totales

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait pollinique a été déterminé par spectrophotométrie selon la méthode de **Ribéreau-Gayon et al. (1982)**. Ce dernier est basé sur la réaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation des composés phénoliques, dans un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), la couleur bleue produite est proportionnelle à la proportion de composés phénoliques en solution.

La teneur en composés phénoliques a été évaluée selon la méthode décrite par **Naithani et al. (2006)**, 100 μ l d'extrait de pollen ont été ajoutés à 100 μ l de Folin-Ciocalteu et 1,75 ml (2 %) de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3), et l'absorbance a été lue à 750 nm après incubation pendant 30 minutes dans l'obscurité. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'acide gallique pour 1g d'échantillon (mg EAG/g).

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre qui forme une liaison covalente avec le trichlorure d'aluminium ce qui donne des complexes jaunâtre (**Ribéreau et al., 1972**) ; ceci se traduit par le fait que le métal (Al) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons.

Les doses de flavonoïdes ont été estimées selon la méthode décrite par **Al et al (2009)**. 1 ml d'extrait de pollen a été mélangé avec 4 ml d'éthanol et 300 μ l de nitrite de sodium ($NaNO_2$) (5 %), après 5 min, un volume égal de chlorure d'aluminium (10 %) a été ajouté. Après 6 min, 2 ml de soude (1M) ont été ajoutés et l'absorbance a été lue à 510 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine pour 1 g d'échantillon.

II.3. Evaluation de l'activité antioxydante

II.3.1. Activité anti-radicalaire DPPH

La molécule DPPH (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl) est définie comme un radical libre stable se traduisant par une couleur violet foncé caractérisée par une absorption due à la délocalisation des électrons disponibles. Il réagit avec les groupes amines, les phénols et les acides. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à une solution d'une substance

qui peut donner des atomes d'hydrogène ou des électrons, cela fait perdre à la forme réduite (DPPH₂) sa couleur violette et apparaît jaunâtre en raison de la présence de picryl et de l'absorbance lue à 517 nm (**Gulcin et al., 2003**).

L'activité inhibitrice du radical DPPH a été déterminée selon la méthode décrite par **Meda et al. (2005)**. Un volume de 1 mL de radical DPPH (6×10^{-5} M) a été ajouté dans du méthanol à 0,1 mL de l'extrait. Après 15 min d'incubation, l'absorbance a été lue à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = ((\text{Abs C} - \text{Abs E}) / \text{Abs C}) \times 100$$

Où :

Abs C : Absorbance du contrôle.

Abs E : Absorbance de l'échantillon.

II.3.1.1. Activité anti-radicalaire ABTS

Cette méthode est basée sur la capacité du composé à réduire le radical cationique ABTS⁺, acide 2,2-azinobis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Ce radical est formé par oxydation de l'ABTS incolore avec divers composés tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le persulfate de potassium (**Re et al., 1999**).

D'après **Re et al. (1999)**, 100 µl d'extrait de pollen ont été ajoutés à 1 ml d'ABTS. Ensuite l'échantillon a été incubé à une température ambiante pendant 7 minutes. L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 734 nm. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante:

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

Où :

Abs C: Absorbance du control.

Abs E: Absorbance d'échantillon

II.3.2. Pouvoir réducteur

De nombreuses études indiquent une relation directe entre l'activité antioxydante et la puissance réduite (**Bentabet et al., 2014**). Cette méthode est utilisée pour évaluer le pouvoir réducteur des antioxydants dans l'extrait par la réduction du fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}) (**Koula et al., 2014**).

Selon la méthode de **Beretta et al. (2005)**, 500 μl d'extrait de pollen plus 1500 μL de tampon phosphate et 1500 μl de ferrocyanure de potassium ont été homogénéiser et incubé pendant 20 min à 50 °C dans un bain-marie. Après incubation, 1500 μl d'acide trichloroacétique (TCA) sont ajoutés au mélange. 1250 μl de ce mélange sont dilués avec 1250 μl d'eau distillée (H_2O). Ensuite 1250 μl de chlorure de fer (FeCl_3) ont été ajouté. Après 10 minute d'homogénéisation, l'absorbance à été lue à 700 nm.

II.3.3. Test de FRAP

La méthode FRAP peut être utilisée pour évaluer la présence d'antioxydants dans l'échantillon. Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le fer (III) Fe^{3+} en fer (II) Fe^{2+} . La capacité réductrice serait l'un des mécanismes antioxydants (**Bakchiche et al., 2017**).

Selon la méthode de **Makcimovic et al., (2005)**, 750 μl de réactif FRAP ont été ajouté à 500 μl d'extrait de pollen avec quelques ajustements de laboratoire. Le mélange est ensuite homogénéisé et incubé à 37 °C pendant 5 minutes. L'absorbance à été lue à une longueur d'onde de 593 nm.

II.3.4. Phosphomolybdate

Le test de phosphate de molybdène est basé sur la réduction du molybdène élémentaire présent dans l'échantillon et la formation subséquente d'un complexe de phosphate de molybdène vert à pH acide (**Julijana Tomovska, Ilmije Vllasaku, 2021**).

Selon la méthode de **Hoque et al. (2021)**, 1 ml de réactif phosphomolybdate à été ajouté à 100 μl d'extrait de pollen. Le mélange à été incubé dans un bain-marie à 90 °C pendant 90 minutes. L'absorbance à été lue à 695 nm.

II.3.5. Dosage des protéines

La teneur en protéines de notre échantillon de pollen est mesurée à l'aide de la méthode de Bradford. Il s'agit d'une méthode colorimétrique dans laquelle le colorant « Coomassie

Blue G250 », qui est vert foncé en milieu acide, vire au bleu lors de la liaison aux groupes NH^{3+} des protéines (**Bradford, 1976**). 5 ml de réactif de Bradford ont été ajouté à 100 μl d'extrait de pollen. L'absorbance a été lue à 595 nm après 10 min de l'homogénéisation. Les résultats sont exprimés en équivalent de BSA pour 1g d'échantillon.

Chapitre III
Résultats et discussion

III.1. Résultats de dosage des antioxydants

Les résultats obtenus pour les teneurs en antioxydants sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.1: La teneur en antioxydants de l'échantillon.

Antioxydants	Composés phénoliques totaux (mg EAG/g)	Flavonoïdes (mg EQ/g)
Taux	185,49±8,06	46,66±6,07

III.1.1. Les composés phénoliques totaux

Les résultats de la présente étude montrent que la teneur en polyphénols de l'échantillon étudié est de 185,49±8,06 mg EAG/g. Le résultat obtenu est supérieur aux résultats rapportés par **Livis et al. (2009)** qui varient de 640 à 1640 mg EAG/100g. Cette différence peut être due à l'origine florale, à la période de récolte et à l'origine géographique du pollen.

III.1.2. Les flavonoïdes

La teneur en flavonoïde a été réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), en utilisant comme standard la quercétine, elle est exprimée en mg EQ/g d'extrait de pollen. La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium nous a permis d'obtenir une teneur de 46,66±6,07 mg EAG/g de pollen.

La teneur en flavonoïdes du pollen obtenue dans cette étude est supérieure aux résultats obtenus par **Marghitas et al. (2009)**, pour le pollen de Roumanie [60 à 1360 mg ECAT/100 g]. Cette différence peut être expliquée par l'origine florale (chaque plante possède ses propres flavonoïdes) et les conditions climatiques.

III.2. Résultats de dosage de l'activité antioxydante

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'activité antioxydante sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.2: Activité antioxydante de l'échantillon

Tests	Pouvoir réducteur mg EAG/g	Phosphomolybdate mg EAG/g	FRAP mg EAG/g	DPPH %	ABTS %
Taux	7,35±2,91	60,98±10,09	59,58±0,99	52,98±3,13	86,16±0,94

III.2.1. Activité anti-radicalaire DPPH

Le pourcentage d'activité anti-radicalaire d'extrait de pollen trouvé dans cette étude est de 52,98±3,13 %, il est supérieur à celui du pollen de Portugal qui varie de 2,16 à 5,87% (Almaraz-Abarca *et al.*, 2004), mais inclus dans l'intervalle obtenu par Leja *et al.* (2007) qui varie de 10,5 à 76,1 %.

Les recherches faites sur l'activité anti radicalaire du pollen sont nombreuses et les résultats sont différents d'une étude à l'autre, cela peut être expliqué par plusieurs facteurs influençant l'efficacité de l'extraction, la nature et le volume des solvants utilisés.

III.2.2. Activité anti-radicalaire ABTS

La capacité du composé à réduire le radical cationique ABTS⁺, acide 2,2-azinobis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) a été déterminée par la méthode de Re *et al.* (1999). D'après le tableau III.2, le résultat obtenu est de 86,16±0,94 %, il est supérieur à celui retrouvé par Zuluoga *et al.* (2015) qui est de 43%. Cela peut être expliqué par la différence de la nature et le taux des antioxydants présents dans chaque échantillon.

III.2.3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est estimé selon la méthode décrite par Beretta *et al.* (2005), Le résultat est exprimé en mg EAG/g de pollen. Le pouvoir réducteur de notre échantillon est de 7,35±2,91 mg EAG/g.

III.2.4. Test de FRAP

La capacité antioxydante FRAP a été déterminée par la méthode de **Makcimovic et al. (2005)**. La tendance des activités de réduction des ions ferriques du pollen a été présentée dans le tableau III.2, qui est de $59,58 \pm 0,99$ mg EAG/g, elle est supérieure à celle trouvée par **Maksimovic et al. (2005)** qui varient entre $79,8 \pm 0,5$ à $160,8 \pm 0,5$ mg EAG/100g. Cette différence peut être expliquée par la différence en composés phénoliques.

III.2.5. Phosphomolybdate

L'activité antioxydante totale est déterminée selon la méthode d'écrite par **Md. A Hoque et al. (2021)**, le résultat obtenu est de $60,98 \pm 10,09$ mg EAG/g. Notre résultat est supérieur à ceux trouvés par **Rebiai et Lanez (2012)** avec des valeurs de 7,19 à 10,15 mg équivalents d'acide ascorbique/g.

III.2.6. Dosage des protéines

La teneur en protéines de l'échantillon du pollen étudié est de $49,35 \pm 3,81$ mg EBSA/g. Ce résultat est largement inférieur aux valeurs communiquées par **Yang et al. (2013)** [14860 à 28960 mg EBSA/100 g] et également inférieur aux résultats obtenus par **Alksandar et al. (2015)** qui varient de 14830 à 27250 mg EBSA/100 g. Nous pouvons expliquer ces différences par la période de récolte, les conditions de stockage et l'origine botanique.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Au terme de ce travail qui a été élaboré au sein des laboratoires du département SNV, et qui avait pour objectifs d'évaluer l'activité antioxydante du pollen de la région d'Akfadou.

Les résultats obtenus, comparativement aux données bibliographiques, ont révélés la richesse de ce type de pollen en composés phénoliques ($185,49 \pm 8,06$ mg EAG/g), et en flavonoïdes ($46,66 \pm 6,07$ mg EAG/g). Le pouvoir réducteur varie de $7,35 \pm 2,91$ g EAG/g et l'activité antioxydante oscille entre 52,98 mg à 86,16 mg équivalent d'acide gallique/g.

L'estimation de l'activité antioxydante effectuée par la méthode de DPPH sur l'échantillon du pollen a confirmé les propriétés puissantes des extraits éthanoliques à piéger les radicaux libres.

La variation de l'activité antioxydante de l'échantillon est peut être attribué aux origines botanique, la présence d'agents antioxydants tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, la qualité et la quantité des composés phénolique qui peut être affectée par de nombreux facteurs, sa structure et en particulier les degrés et la position des groupements hydroxyle sur le noyau aromatique de la molécule.

La richesse de ce type de pollen en composés bioactifs et son pouvoir antioxydant élevé prédisent une valeur biologique importante, permettant d'assurer un effet préventif de nombreuses pathologies, en luttant contre le stress oxydatif.

L'ensemble des travaux réalisés nous a permis de dégager les perspectives suivantes :

- Une étude quantitative plus approfondie pour déterminer la teneur des autres composés phénoliques.
- Approfondir cette étude par l'analyse des autres constituants biochimiques en utilisant d'autres tests d'évaluation de l'activité antioxydante.

*Références
bibliographiques*

A

1. **Abdella, E.M., Tohamy, A., Ahmed, R.R. (2009).** Antimutagenic activity of Egyptian propolis and bee pollen water extracts against cisplatin-induced chromosomal abnormalities in bone marrow cells of mice. *Iranian Journal of Cancer Prevention* 2, 175-181
2. **Afanasev I.B. (2009).** Signaling mechanisms of oxygen and nitrogen free radicals. CPC Press. pp: 1-71.
3. **Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P et Lomri A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*.74, p 636–643.
4. **Al L. M., Dezmirean D., Adela M., Otilia B., Laura L et Bogdanov S. (2009).** Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *FoodChemistry*. 112, p 863-867.
5. **Alin caillas.(1968).** le pollen: sa récolte, ses propriétés et ses usages
6. **Arráez-Román D., Zurek G.,Bäßmann C., Almaraz-Albarca N., Quirantes R., Segura-Carretero A et Fernández-Gutiérrez A. (2007).** Identification of phenolic compounds from pollen extracts using capillary electrophoresis–electrospray time–of–flight. *Anal Bio analChem*. 389, p 1909-1917.

B

7. **Bariliak, I.R., Berdyshev, G.D., Dugan et A.M. (1996).** The antimutagenic action of apiculture products. *The Journal of Cytology and Genetics* 30, 48-55.
8. **Bidri M. et Choay P. (2017).** Regain d'intérêt pour la grenade, un fruit majestueux aux multiples propriétés. *Phytothérapie* 15: 91-103.
9. **Blanc M. (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de limoges, Faculté de Médecine et de pharmacie, p24-29.
10. **Bogdanov S., Cherbulliez T. et Stanauir S. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *SPETRA Biologie*. 157, p 23- 26.
11. **Bradbear, N., (2010).** Le rôle des abeilles dans le développement rural. Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, 238 p.

Références bibliographiques

12. **Bruneau, E. (2011).** Chapitre IX : Les produits de la ruche. In : Clément et al., Le traité rustica de l'apiculture. Editions Rustica, Paris, p 354-387.
13. **Bruneton J. (2008).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème Ed Paris, Lavoisier Tec & Doc.
14. **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème éd. Lavoisier.

C

15. **Campos, M.G.R., Bogdanov, S., de Almeida-Muradian, L.B., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C. et Ferreira, F. (2008).** Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Api. Res*, 47, 154–161.
16. *Chemistry*, 53: 4290-4302.
17. **Christianson D.W. (2008).** Unearthing the roots of the terpenome. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12,141-150.
18. **Clément, H., Conte, Y.L., Barbancon, J.M., Vaissière, B., Collectif. (2011).** Le traité rustica de l'apiculture.

D

19. **Darrigol J.L. (1979).** Le miel pour votre santé: propriété thérapeutique de miel, du Pollen, de la gelée royal et de la propolis. Edition Dangles. France : p.140.
20. **Derbel, S et Ghedira, K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*. 1, p 28-34.
21. **Donadieu Y. (1983).** Le pollen : thérapeutique naturelle. Edition Maloine S.A ; 6ème édition, Paris : p 84-97.
22. **Ducreux G. (2002)** Construction et organisation fonctionnelle de l'appareil reproductrice. Introduction à la botanique. Belin-sup, Paris, p178-244)

E

23. **El-Agamey A., Low,G.M.,Mc Garvey D.J., Mortensen A. ,Phillip, D.M., Truscott T.G. et Young A.J. (2004).** Carotenoid radical chemistry and antioxidant / pro-oxidant properties. *Archives of biochemistry and biophysics*. 430, p 37-48.

F

24. **Fatrcova-Šramkova, K., Nožkova, J., Kac̣aniova, M., Mariassyova, M., Rovna, K. et Stric̣ik, M. (2013).** Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health* 48, 133-138.
25. **Flavonoids from Cistus-Ladanifer bee pollen. Phytochemistry. 31. p2027–2029.**

G

26. **Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A. M., (2001).** Le préparateur en pharmacie. *Dossier*, 2, 272.
27. **Gongo, M.Y.M. (2012).** Etude des propriétés anti radicalaires et antiproliférative d'extrait de feuilles et de rameaux de SALVADORA PERSICAL. (Salvadoraceae). Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de OUAGADOUGOU, Faculté des Sciences de la santé, p.42.
28. **Gü için İ., Oktay M., Kirreççi E. et Kü frevioğ lu Ö I. (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem.* 83, 371-382.
29. **Guerriat H. (2000).** Etre performant en apiculture. Ed. Rucher du Tilleul. Pp: 51; 108 113.

H

30. **Hadri N. (2015).** Etude phytochimique et activité antioxydante d'extrait de plantes *Sedum villusum* L. (Orpin) et *Anabasis articulata* Moq. (Forsk). Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire et biochimie. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, p 106.
31. **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C et Chapelle J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege.* 62, p 628-638.
32. **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C et Chapelle J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege.* 62, p 628-638.
33. **Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
34. **Hartmann, T., (2007).** From wasteproducts to ecochemicals, fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry.* p68, 2831–2846.

Références bibliographiques

35. **Haton C. (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, p 43.

J

36. **Jacques G et Claude J. (2008).** 250 réponses aux questions d'un ami des abeilles. Editions du Gerfaut. Paris.215p

L

37. **Lemineur, T., Deby-Dupont, G. et Preiser, J.C. (2006).** Biomarkers of oxidative stress in critically ill patients: what should be measured, when and how. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 9:704-10.
38. **Lien Ai Pham-Huy, Hua He et Chuong Pham-Huy. (2008).** Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Biomedical science*.2, p 89-96.

M

39. **Meda A. (2005).** Utilisation thérapeutique des produits de la ruche. Etude phytochimique et activité biologique des miels de BURKINA FASO. Thèse de doctorat en science biologique appliquée : p 1-139.
40. **Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.

N

41. **Naithani, V., Nair, S. et Kakkar, P. (2006).** Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, 39, 176–181.
42. **Narayana R. K., Reddy S. M., Chaluvadi M.R. et Krishna D.R. (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*.33, p 2-16.

O

43. **Ortiz G.G., Pacheco-Moisés F.P., Bitzer-Quintero O.K., Ramírez-Anguiano A.C., Flores-Alvarado L.J., Ramírez-Ramírez V., Macias-Islas M.A. et Torres-Sánchez E.D. (2013).** Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013; 1-14.

Références bibliographiques

44. **Ortuño, A., Báidez, A., Gómez, P., Arcas, M. C., Porrás, I., García-Lidón, A., Del Rio, J. A. (2006).** Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, 98, 351-358.

P

45. **Philippe J.M (1999).** Le guide de l'apiculture. Ed SUD. Pp : 347 ; 402 ; 427.
46. **Pincemail J et Defraigne J.O. (2008).** Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège*. 6, p 10-19.
47. **Pons A. (1970).** Le pollen
48. **Prior R.L., Wu X et Schaich K. (2005).** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in food and dietary supplements. *J. Agric. Food*

R

49. **Ráčková, L., Májčková, M., Košťálová, D., & Štefek, M., (2004).** Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from *Mahonia aquifolium*. Structural aspects. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12, 4709-4715.
50. **Rao, C. V., & Vijayakumar, M., 2008.** Effect of quercetin, flavonoids and α -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. *European journal of pharmacology*, 589, 233-238.
51. **Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P et Ribéreau-Gayon P. (1982).** Composés phénolique. In « Trait d'oenologie, sciences et technique du vin ». Edition Dunob, p 477- 499.
52. **Rice-Evans C. (1999).** Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity. In *Antioxidants food supplements in human health*. Edition Academic Press, p 239-253.

S

53. **Salido M. et Rosado J.A. (2009).** Apoptosis: involvement of oxidative stress and intracellular Ca^{2+} homeostasis genes. Springer Science and Business Media, pp: 1-17.
54. **Stanly; R.G; Linskens. H.F (1974).** Pollen. Berlin, Springer.
- Thakur, M., Nanda, V. (2020).** Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 82–106.

T

55. **Therond, P. (2006).** Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA). *Ann Pharm Fr* 64:383-9.
56. **Thibault, M. (2017).** Le pollen apicole : ses propriétés et ses utilisations thérapeutiques. *Sciences pharmaceutiques*.
57. **Tomas- Lorent, F; Garciagrau, M.M, Nieto, J.L; Tomas-Barberant.F.A (1992).**

U

58. **Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., Węgrzyn, G. (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Archives of Microbiology*, 184, 271-278.

V

59. **Vaissière (2006).** Pollinisation apiculture. Pp: 365; 366.
60. **Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A., (2008).** Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science* 73, 117 124.

Z

61. **Ziech D., Franco R., Georgakilas A.G., Georgakila S., Malamou-Mitsi V., Schoneveld O., Pappa A. et Panayiotidis M.I. (2010).** The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental and carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-Biological Interactions*, 188; 334-339

Annexes

Annexe 01

Courbes d'étalonnage

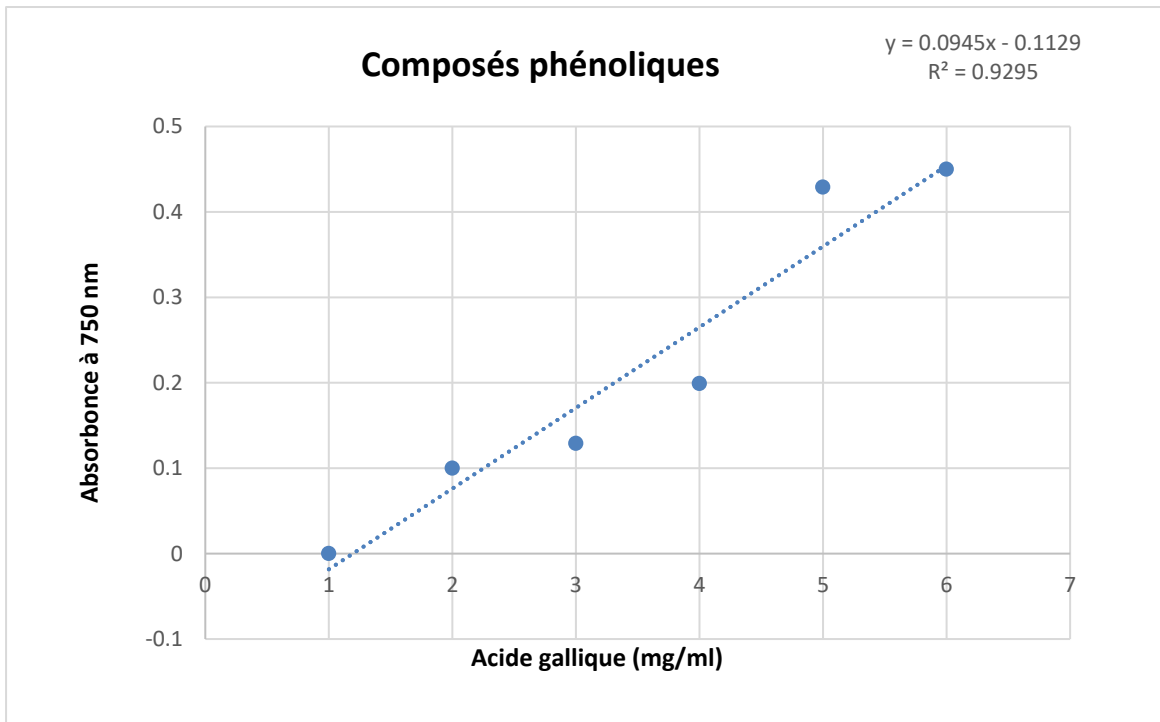


Figure 01 : Courbe d'étalonnages des composés phénoliques.

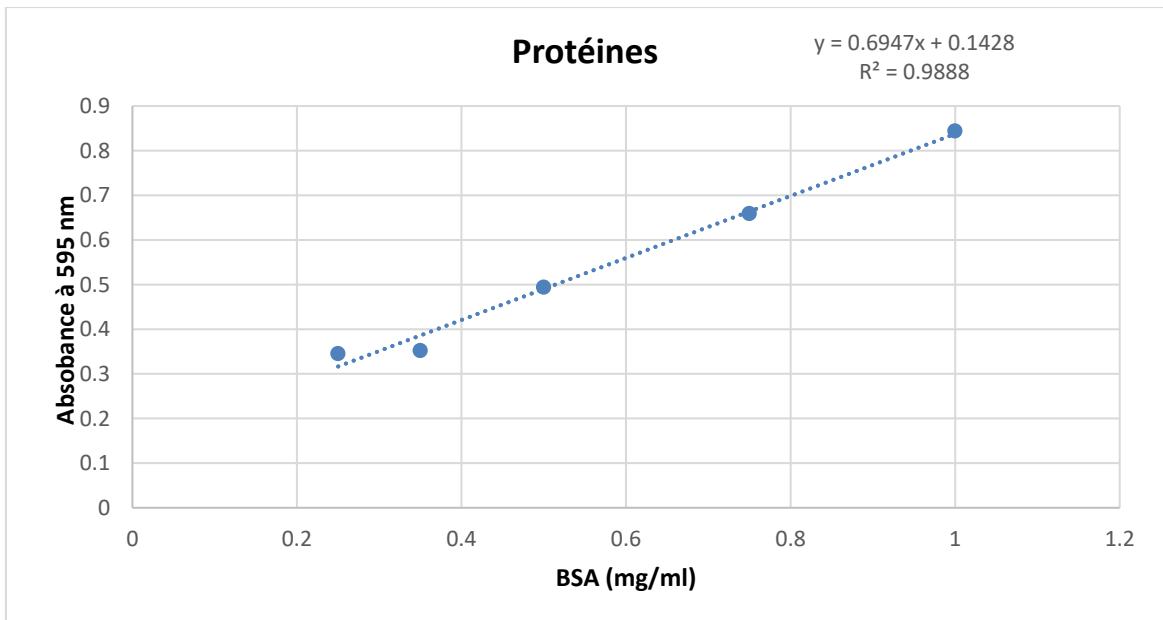


Figure 02 : courbe d'étalonnage des protéines

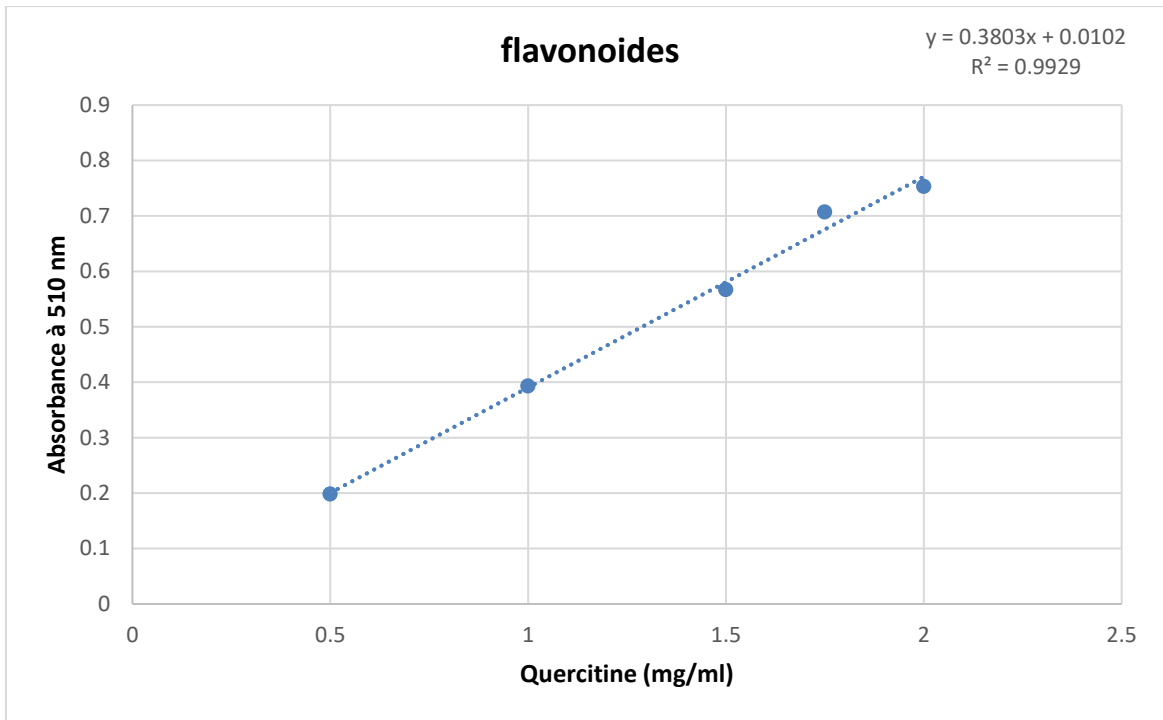


Figure 03 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

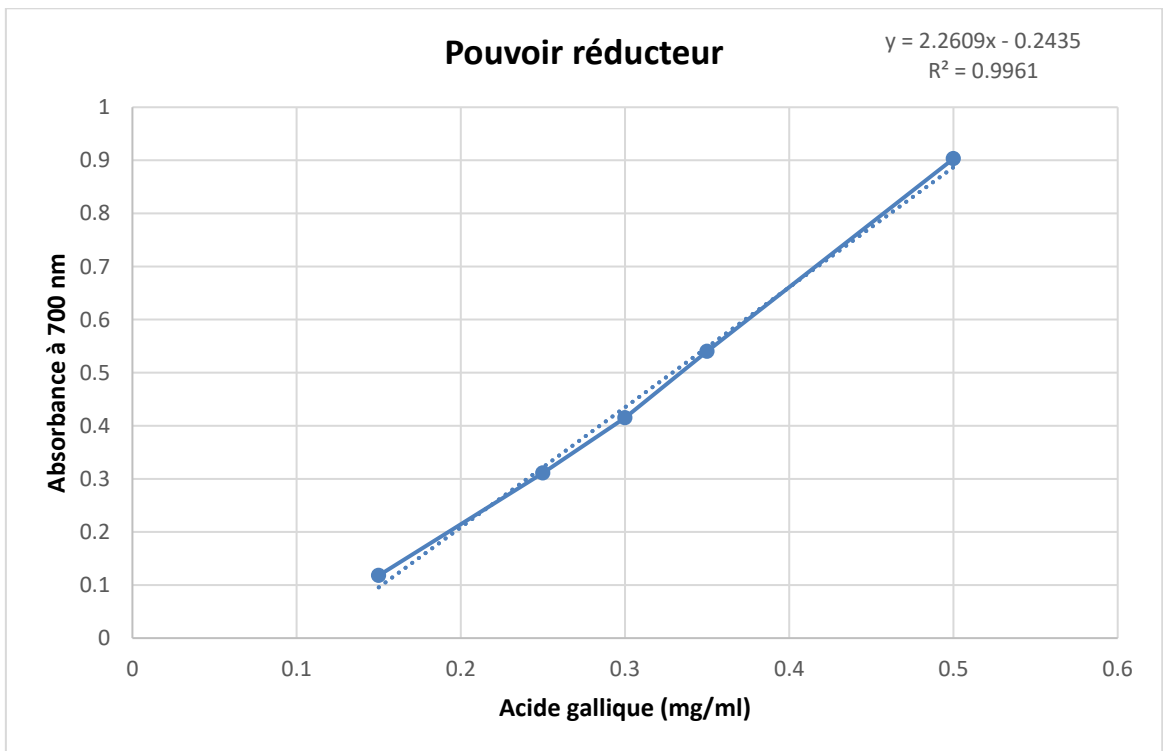


Figure 04 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

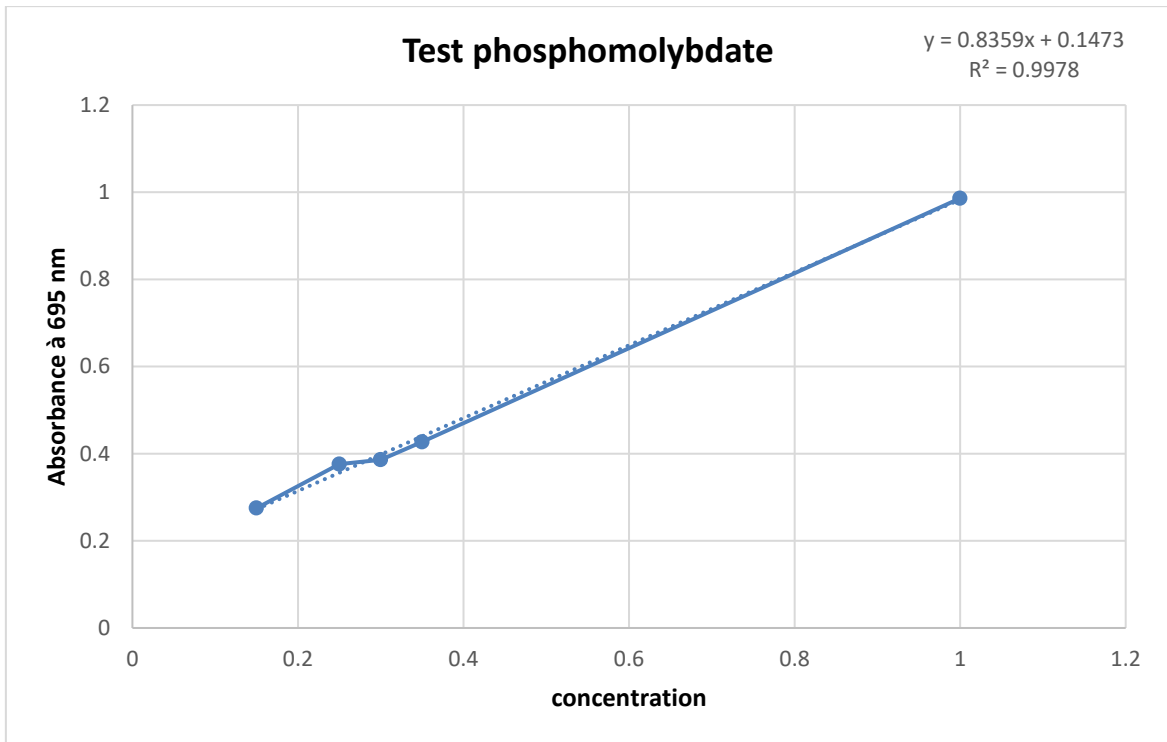


Figure 05 : Courbe d'étalonnage du phosphmolybdate

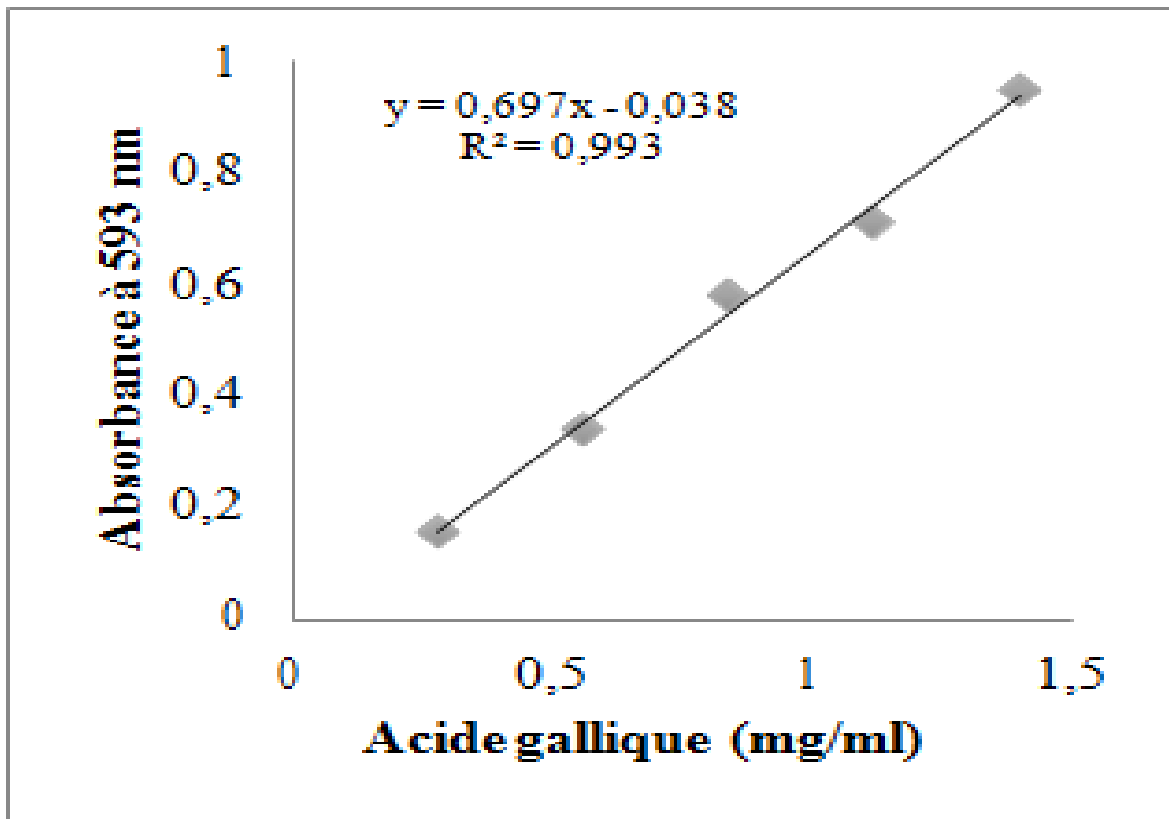


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de FRAP

Propriétés antioxydantes du pollen.

Résumé

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon de pollen et quantifier les substances bioactives contenues dans ce dernier, particulièrement les polyphénols et les flavonoïdes. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est de $185,49 \pm 8,06$ mg EAG/g. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant le chlorure d'aluminium $AlCl_3$, et leur teneur est de $46,66 \pm 6,07$ mg EQ/g. Ces résultats révèlent la richesse du pollen étudié en composés phénoliques. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de DPPH ($52,98 \pm 3,134$ %), pouvoir réducteur ($7,35 \pm 2,91$ mg EAG/g), test de phosphate de molybdène ($60,98 \pm 10,09$ mg EAG/g), test de FRAP ($59,58 \pm 0,99$ mg EAG/g). Les résultats indiquent que ce pollen possède un pouvoir antioxydant très puissant.

Mots clés : Pollen d'abeille, les polyphénols, les flavonoïdes, l'activité antioxydante.

Abstract

The aim of our study was to evaluate the antioxidant activity of a pollen sample and quantify the bioactive substances contained in it, particularly polyphenols and flavonoids. Total polyphenol content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, at $185,490 \pm 8,066$ mg EAG/g. Flavonoids were assessed using the $AlCl_3$ aluminum chloride method, with a content of $46,66 \pm 6,07$ mg EQ/g. These results reveal the richness of the pollen studied in phenolic compounds. Antioxidant activity was assessed by DPPH ($52,98 \pm 3,13$ %), reducing power ($7,35 \pm 2,91$ mg EAG/g), molybdenum phosphate test ($60,98 \pm 10,09$ mg EAG/g), FRAP test ($59,58 \pm 0,99$ mg EAG/g). The results indicate that this pollen has very powerful antioxidant properties.

Key words: Bee pollen, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.

ملخص

الهدف من دراستنا هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لعينة حبوب اللقاح وتحديد كمية المواد النشطة بيولوجيًا الموجودة في الأخير، وخاصة البوليفينول والفلافونويد. تم تحديد محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu، وهو 185.490 ± 8.066 mg EAG / g. تم تقييم مركبات الفلافونويد بالطريقة باستخدام كلوريد الألومنيوم $AlCl_3$ ، وكان محتواها 46.662 ± 6.075 mg EQ / g. تكشف هذه النتائج عن ثراء حبوب اللقاح المدروسة في المركبات الفينولية. تم إجراء نشاط مضادات الأكسدة بطريقة DPPH (52.98 ± 3.13 %)، تقليل الطاقة (7.35 ± 2.91 mg EAG / 100 مجم)، اختبار فوسفات الموليبدنوم (60.98 ± 10.09 mg EAG / g)، اختبار FRAP (59.58 ± 0.99 mg EAG / g). تشير النتائج إلى أن حبوب اللقاح هذه لها قوة مضادة للأكسدة قوية جدًا.

الكلمات المفتاحية: لقاح النحل، البوليفينول، الفلافونويد، الفعالية المضادة للأكسدة