

*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  
Option : Biochimie Fondamentale



Réf :.....

# *Memoire de fin de cycle*

En vue de l'obtention du  
diplôme  
**MASTER**

## *Thème*

*Dosage des antioxydants et l'évaluation de  
l'activité antioxydante du pollen*

Soutenu le : 25 juin 2018

### *Proposé par :*

M<sup>elle</sup> GALOUL Assia

M<sup>elle</sup> TOUAHRIA Massissilia

### *Membre du jury :*

Mme BERBOUCHA. M    MAA    Présidente

Mr HAMOUM. M    MAB    Promoteur

Mme SAADAOU    MCB    Examinatrice

Année : 2017-2018

## **Remerciements**

*Le présent document couronne nos études universitaires très riche en enseignements et expériences tant sur le plan du savoir scientifique que de celui de la vie en collectivité.*

*Nous remercions Dieu pour nous avoir données la vie éternelle, aide, patience et courage tout au long de notre vie.*

*Nous remercions très vivement notre promoteur **Mr HAMOUM** d'avoir accepté de nous guider et de nous aider pour avoir toujours eu confiance en nous et pour son soutien. Il s'est toujours montré à l'écoute et disponible pour réaliser ce modeste travail.*

*Que nos vifs remerciements aillent à **Mme BERBOUCHA**, qui nous nous a fait l'honneur de présider le jury. Nous adressons également nous hommages les plus respectueux*

*à **Mme. SAADAOUI**, qui nous a fait l'immense honneur d'accepter d'être examinatrice de ce mémoire.*

*Avec tout notre respect on tient à remercier **Mr OUCHEMOUKH**. S pour son aide, ses orientations judicieuse, ses qualité d'ordre et d'efficacité et pour l'élaboration de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **Mme KADJI .H**, de nous avoir guidé dans les moindres étapes de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous remercions également **Mr OTMANI. A**, **Melle BEDJIH. F**, de nous avoir suivis et d'avoir participé au bon déroulement de notre travail et pour leurs conseils et leurs diverses orientations,*

*Un grand merci à **nos familles**, pour leur soutien permanent et indéfectible qui nous a permis de chercher au plus profond fond de nous-mêmes la force, la volonté et la persévérance à même d'arriver à cet instant des plus importants de notre vie.*

*Un merci pudique à **nos amis**, **nos collègues** en Master 2 et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de cette œuvre.*

## *Dédicace*



*Je dédie ce modeste travail à:*

*La lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie à **mes chers parents** pour leurs soutiens durant le long chemin de mes études, qui ont toujours été là pour moi, et qui ont beaucoup sacrifié pour que j'atteins ce niveau, qu'ils trouvent ici tous mes profonds remerciements, et j'espère qu'ils sont fières de leur fille et que dieu vous bénisse pour moi.*

*Mes chers frères*

***Asalas** c'est ma fierté, l'homme de la maison après mon père*

*Mon cher **Ramtan** notre boxeur*

***Fayas** l'intelligent de la famille*

***Fares** mon petit homme et le gâté de la famille*

*Je les souhaitent la réussite dans tous les domaines*

*Mes chères sœurs **Nina** et **Zahou***

*Tous mes oncles et leurs familles, mes cousines et mes cousins*

*Surtouts **Maissa**, **Lyli**, **Meriem** et **Papou***

*Mes adorables **Naima**, **Kouça**, **Kahina**, **Fares**, **Sonia** et **Toufik***

*Ils ne sont pas maintenant à mes côtés mais ils sont toujours présents dans mon cœur*

*Mes chers amis **Koko**, **Kanza**, **Wissam**, **Islam**, **zinab**, **katia**, **Nora***

***Dalia**, **Thiziri**, **Yasmina**, Les deux **Karima**, **Yamina**, **Iman**, **Meriem** et **Hafid***

*Ma chère copine, binôme et sœur **Assia** et à toute sa famille*

***Massissilia TOUAHRIA***

## Dédicaces



*Je dédie ce modeste travail de recherche à :*

*Mon père qui fait tout son possible pour que je puisse être ainsi, pour tous leurs efforts et leur patience durant toutes ces années, Pour m'avoir orienté et encouragé dans mes études, que dieu les bénisse dans son vaste paradis.*

*Ma très chère mère, que j'aime très fort et qui a toujours espéré ma réussite et qui m'a donné assez d'affection et je prie le dieu de la protéger du mal, à ma sensible mère, celle que je lui souhaite une longue vie pleine de santé et de prospérité.*

*Mes très chers frères « Ahcene » et « Yacine » qui me servit d'avantage dans ma vie, je souhaite une vie pleine de joie et de réussite.*

*Ma sœur « Sonia » qui m'encourage dans mes études afin de réaliser mes projets, je lui souhaite une belle vie avec son mari « Fatah » et ses enfants « Aymen, Aberrahmane et Adem. »*

*Mes amis, « ma très chère cousine Assia, Madiha, Wissam, Zineb, Lydia, , Fares, Faycel, Islem, Hafid, Katia, Noura, les deux Karima, Dalia, Yamina, Yasmina, Thiziri, Iman, Sonia et Meryoma, Mes cousins et Mes cousines ».*

*Ma très chère binôme « Sylvia » et sa famille.*

*Toute ma grande famille.*

*Toute la promotion biochimie fondamentale (2017/2018).*

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.*

*Assia GALOUL*

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction générale</b> .....	01

### *Chapitre I : Synthèse bibliographique*

#### *I.1. Généralités sur pollen*

I.1.1. Définition .....	02
I.1.2. Caractéristiques organoleptiques .....	02
I.1.3. Caractères microscopiques.....	02
I.1.4. Pollinisation .....	03
I.1.5. Récolte du pollen .....	04
I.1.6. Composition chimique du pollen.....	05
I.1.7. Propriétés biologiques du pollen .....	06
I.1.8. Conservation du pollen .....	06

#### *I.2. Radicaux libres et systèmes antioxydants*

I.2.1. Radicaux libres .....	07
I.2.2. Stress oxydatif.....	08
I.2.3. Systèmes antioxydants.....	08
I.2.4. Activité antioxydante.....	13

### *Chapitre II : Matériel et méthodes*

II.1. Echantillonnage .....	14
II.2. Préparation des extraits du pollen.....	16
II.3. Analyse pollinique.....	16
II.4. Analyse physico-chimique.....	17
II.4.1. Taux de Brix. ....	17
II.4.2. Humidité.....	17
II.4.3. Couleurs.....	17
II.4.4. Dosage des protéines.....	17
II.5. Dosage des antioxydants .....	18
II.5.1. Dosage des composés phénoliques totaux.....	18
II.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	18

II.5.3. Dosage des caroténoïdes.....	18
II.5.4. Dosage des proanthocyanidine.....	19
II.6. Activités antioxydants.....	19
II.6.1. Activité anti radicalaire DPPH.....	19
II.6.2. Activité anti radicalaire ABTS.....	20
II.6.3. Pouvoir réducteur.....	20
II.6.4. Test FRAP.....	21
II.7. Analyse statistique.....	21

### *Chapitre III : Résultats et discussions*

III.1. Analyse pollinique.....	22
III.2. Analyse physico-chimique.....	25
III.2.1. Taux de brix .....	25
III.2.2. Humidité (teneur en eau) .....	26
III.2.3. Couleur .....	27
III.2.4. Dosage des Protéines .....	27
III.3. Dosage des antioxydants .....	28
III.3.1. Composés phénoliques totaux .....	29
III.3.2. Flavonoïdes .....	29
III.3.3. Caroténoïdes .....	30
III.3.4. Proanthocyanidines .....	31
III.4. Activités antioxydantes .....	32
III.4.1. Activité antiradicalaire DPPH .....	32
III.4.2. Activité antiradicalaire ABTS .....	33
III.4.3. Pouvoir réducteur.....	33
III.4.4. Test FRAP .....	34
III.5. Analyse de corrélation .....	34
III.5.1. Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et les antioxydants .....	35
III.5.2. Corrélation entre les paramètres physico-chimiques et les activités antioxydantes .....	35
III.5.3. Corrélation entre les antioxydants et les activités antioxydantes .....	36
III.6. Analyses en composantes principales.....	36
<b>Conclusion générale</b> .....	37
<b>Références bibliographiques</b> .....	38
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

<b>ABTS</b>	: 2,2-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique
<b>Abs</b>	: Absorbance
<b>Abs C</b>	: Absorbance de Control
<b>Abs E</b>	: Absorbance d'Echantillon
<b>ACP</b>	: Analyse en composantes principales
<b>ADN</b>	: Acide Désoxyribonucléique
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	: Trichlorures d'aluminium
<b>ANOVA</b>	: Analyse de la variance
<b>BSA</b>	: Bovine Sérum Albumine
<b>CPT</b>	: Composé phénolique totaux
<b>DPPH</b>	: 2,2-diphényle -1-picrylhdrazyl
<b>EC</b>	: Equivalents de catéchine
<b>EQ</b>	: Equivalents de quercetine
<b>βC</b>	: Equivalents de β- carotène
<b>EGA</b>	: Equivalents d'acide gallique
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	: Chlorure Ferrique
<b>FRAP</b>	: Ferric reducing antioxydant power
<b>HCl</b>	: Chlorure d'hydrogène
<b>Mg</b>	: Milligramme
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	: Carbonate de Sodium
<b>NaNO<sub>2</sub></b>	: Nitrite de sodium,
<b>NaOH</b>	: Hydroxyde de sodium
<b>P</b>	: Pollen
<b>TPTZ</b>	: Triptyletriazine
<b>r</b>	: Coefficient de corrélation
<b>DRN</b>	: Dérivés réactifs de l'azote
<b>DRO</b>	: Dérivés réactifs de l'oxygène

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Photographie d'abeille porteuse une pelote du pollen.....	2
<b>Figure 02</b> : Photographie des graines du pollen.....	2
<b>Figure 03</b> : Structure de graine du pollen.....	3
<b>Figure 04</b> : Pollinisation.....	3
<b>Figure 05</b> : Pourcentage des différents composants du pollen.....	5
<b>Figure 06</b> : Mécanisme d'action des antioxydants phénolique.....	10
<b>Figure 07</b> : Structure de base des flavonoïdes.....	11
<b>Figure 08</b> : Principaux groupes des flavonoïdes.....	11
<b>Figure 09</b> : Structure des pranthocyanidine.....	12
<b>Figure 10</b> : Structure de caroténoïdes.....	12
<b>Figure 11</b> : Echantillons du pollens analysés.....	15
<b>Figure 12</b> : Echantillons du pollen broyé.....	15
<b>Figure 13</b> : Extraits de chaque échantillon du pollen.....	16
<b>Figure 14</b> : Photographies de quelques formes du pollens identifiés dans les échantillons analysés (Grossissement x 40).....	24
<b>Figure 15</b> : Taux de brix et d'humidité des échantillons.....	26
<b>Figure 16</b> : Teneur en Protéines des échantillons.....	28
<b>Figure 17</b> : Teneur en composés phénoliques des échantillons.....	29
<b>Figure 18</b> : Teneur en flavonoïdes des échantillons.....	30
<b>Figure 19</b> : Teneur en caroténoïdes des échantillons.....	31
<b>Figure 20</b> : Teneur en proanthocyanidines des échantillons.....	31
<b>Figure 21</b> : DPPH et ABTS des échantillons.....	33
<b>Figure 22</b> : Pouvoir réducteur et test FRAP des échantillons.....	34



## **Liste des tableaux**

<b>Tableau I</b> : Principaux composés du pollen.....	5
<b>Tableau II</b> :Principaux radicaux libres avec leurs formules chimiques.....	7
<b>Tableau III</b> : Différents types des antioxydants.....	9
<b>Tableau IV</b> : Région de récolte des échantillons du pollen .....	14
<b>Tableau V</b> : Pourcentages et spectres pollinique des échantillons du pollen analysés.....	23
<b>Tableau VI</b> : Analyse physico-chimique des échantillons.....	25
<b>Tableau VII</b> :La teneur en antioxydants des échantillons.....	28
<b>Tableau VIII</b> : Activité antioxydante des échantillons.....	32

# *Introduction*

## **Introduction**

Les produits de la ruche ont été utilisés par Homme depuis le début de l'humanité. Bien que le miel soit le produit le plus important de la ruche, il y a aussi d'autres produits, tels que le pollen d'abeille, la gelée royale, la propolis et la cire d'abeille. Le pollen est un produit apicole dérivé de la ruche qui est le résultat de l'agglutination des pollens de fleurs. Il est produit par les abeilles à partir du nectar et des substances salivaires et stockées à l'entrée de la ruche (**Feás et al., 2012**).

Le pollen est utilisé pour les programmes de sélection des plantes, pour la pollinisation, il peut être stocké pour nourrir les abeilles en période de pénurie, il peut aussi servir à l'étude des réactions allergiques tel que le rhume, il prend de plus en plus de l'intérêt dans l'apithérapie (**Bogdanov et al., 2006**). C'est un supplément nutritionnel très précieux pour les êtres humains en raison de la variété de ses principaux constituants. Très riche en composants chimiques (protéines, lipides, glucides, vitamines hydrosolubles et liposolubles...) (**Campos et al., 2008**), il est considéré comme une source d'antioxydants qui sont des substances de protection pour l'organisme (**Percie de sert.,2009**).

L'organisme humain subit un phénomène d'oxydation ce qui engendre un stress oxydatif. Ce dernier est la cause de dommages dans les molécules biologiques (ADN, Protéines, glucoses et lipides), d'où l'apparition de plusieurs maladies, telles que le cancer et l'athérosclérose (**Rice-Evans, 1999 ; Favier, 2003**). Afin de lutter contre ces radicaux nocifs, l'organisme humain utilise des systèmes de défense antioxydants endogènes (superoxyde dismutase et catalase) et exogènes (apportés par l'alimentation)(**Lien Al Pham-Huy et al., (2008)**).

Dans cette optique nous nous intéresserons dans ce travail à la détermination de quelques propriétés physico-chimiques, la teneur en antioxydants et l'évaluation de leurs activités antioxydantes de quelques échantillons du pollen de la région de Bejaia, puisque peu de recherches ont été menées dans ce sens.

*Chapitre I*  
*Synthèse bibliographique*

## I. Synthèse bibliographique

### I.1. Généralité sur pollen

#### I.1.1. Définition

Le terme pollen est d'origine grec qui veut dire «palé» farine ou poussière (**Donadieu,1983**). c'est l'organe mâle de la fleur, que les abeilles récoltent sous forme de petites pelotes grâce à une série de dépositions sur les différentes fleurs (**Jean-Prost, 2005**). Il est indispensable à la survie de la ruche, car il représente le principal aliment des larves, et pour cette raison les apiculteurs l'appellent communément « pain d'abeille » (**LeBlanc et al., 2009**).



**Figure 01:** Photographie d'abeille porteuse une pelote du pollen (Timezrit mai 2018)



**Figure 02:** Les graines du pollen (Original) la ruche de l'afalou mai 2018)

#### I.1.2. Caractéristiques organoleptiques

La couleur, l'apparence, l'odeur et le goût varient en fonction de l'origine botanique du pollen (**Campos et al., 2008**).

- **Couleur :** varie du blanc au noir, principalement jaune, orange ou brun-jaune .
- **Apparence :** grains hétérogènes, avec différentes formes et tailles.
- **Odeur :** typique
- **Goût :** spécifique, doux, aigre, amer, épicé .

#### I.1.3. Caractères microscopiques

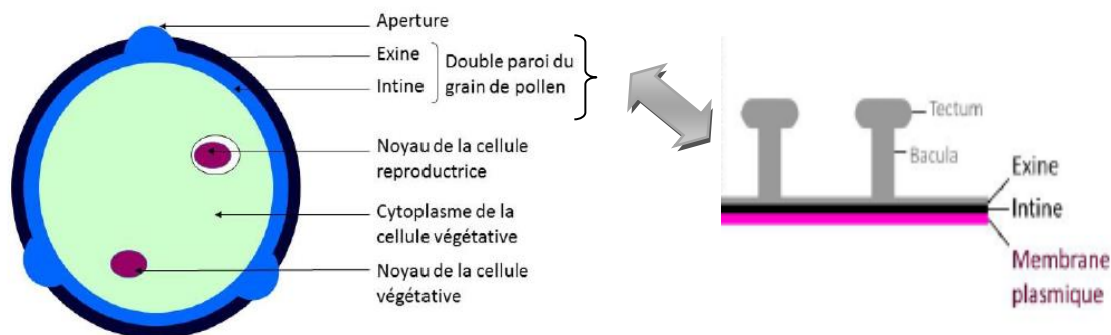
**Forme :** Le pollen se trouve sous plusieurs formes, soit sphériques ou ovoïdes plus ou moins déformées. (**Donadieu, 1983**).

**Taille :** La taille des pollens varient en corrélation avec les caractères de la plante ainsi que leur origine géographique (**Van campo-duplan.,2014**). Les pollens anémophiles mesurent entre 20 et 60  $\mu\text{m}$ , pour certaines Gymnospermes varie entre 2,5 à 220  $\mu\text{m}$  ( **Laaidi et al., 1997**)

**Structure :** Un grain du pollen est une cellule vivante, résultant du développement de microspores groupées en tétrades (conséquences de la méiose) (Marouf et Reynaud, 2007). Il est entouré de deux couches protectrices : l'intine et l'exine.

- **L'intine :** Est la membrane interne du grain du pollen lisse, homogène et semi-perméable constituée de pectine, de protéines et de cellulose, qui entoure le cytoplasme, d'origine gamétophytique, Elle peut disparaître rapidement à la mort cellulaire (Ducreux, 2002).

- **L'exine :** Est la membrane externe du grain du pollen constituée de paroi compliquée, vue au microscope électronique n'a pas une structure homogène elle semble formée de fibres, elle est constituée de sporollémine (mélange d'esters de caroténoïdes et d'acides gras), de cellulose et de protéines sécrétée par les cellules périphériques de sac pollinique. Elle est souvent percée d'ouverture ou d'aperture (Laaidi *et al.*, 1997). L'exine est en générale formée de deux membranes, l'endexine et l'ectexine.



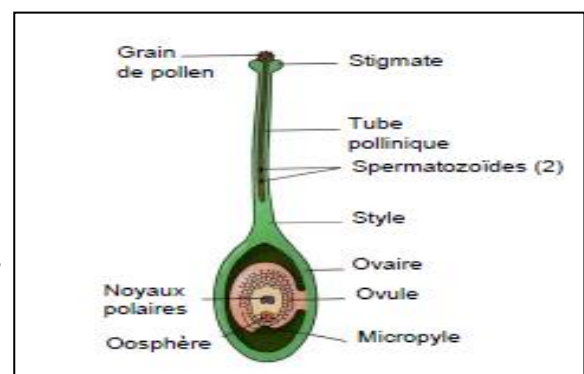
**Figure 03 :** La structure de grain de pollen (Priou., 2016)

#### I.1.4. Pollinisation

La pollinisation est une fécondation assurée au moment de la floraison, où il y aura l'ouverture de l'anthere pour libérer le pollen qui va rencontrer le stigmate des pistils afin d'atteindre l'ovaire, elle peut être soit directe (autofécondation) ou bien indirecte (croisée) (Dondieu, 1983). Cette dernière assure deux types de pollen,

Les pollens entomophiles, qui sont transportés par les insectes et les pollens anémophiles qui sont transportés par le vent (Bellanger, 2009).

Les plantes utilisent pour assurer le transport des grains du pollen des anthères vers les stigmates, à 80 % par les insectes et à 20 % par le vent. Les plantes sont, respectivement, entomogames ou anémogames (Gouranton-Lagier *et al.*, 2008).



**Figure 04 :** La pollinisation (dibos, 2011)

### I.1.5.Récolte du pollen

La récolte du pollen varie de façon qualitative et quantitative, elle se fait principalement à la fin de l'hiver et au printemps. Lorsque l'abeille butine les fleurs, elle récolte en même temps le pollen sur les étamines. Pour cela, les abeilles butineuses sortent de la ruche surtout le matin, avant 10-11 h. Leur vol de récolte dure de 3 à 15 min (**Jean-Prost, 2005**). Elles mordillent avec leurs mandibules les anthères de la fleur et engluent les grains de salive, de nectar ou de miel(**Apimondia,2001**).

#### I.1.5.1. Le mécanisme de confection des pelotes

- Les grains sont piégés dans les poils du corps de l'abeille et collectés par les mandibules.
- Les pattes antérieures rassemblent le pollen accumulé sur la partie antérieure du corps.
- Ce pollen est repris par les pattes médianes qui nettoient également le pollen piégé sur le thorax et l'abdomen(**Jean-Prost, 2005**).
- Ce pollen est ramené aux corbeilles directement ou via la brosse des pattes postérieures, une patte médiane passe entre les tarse des pattes postérieures qui retiennent le pollen grâce à leur peigne.
- Le pollen est enfin rassemblé par le peigne de la patte postérieure opposée et tassé en pelote dans la corbeille (**Apimondia,2001**).

#### I.1.5.2.Le devenir du pollen dans la ruche

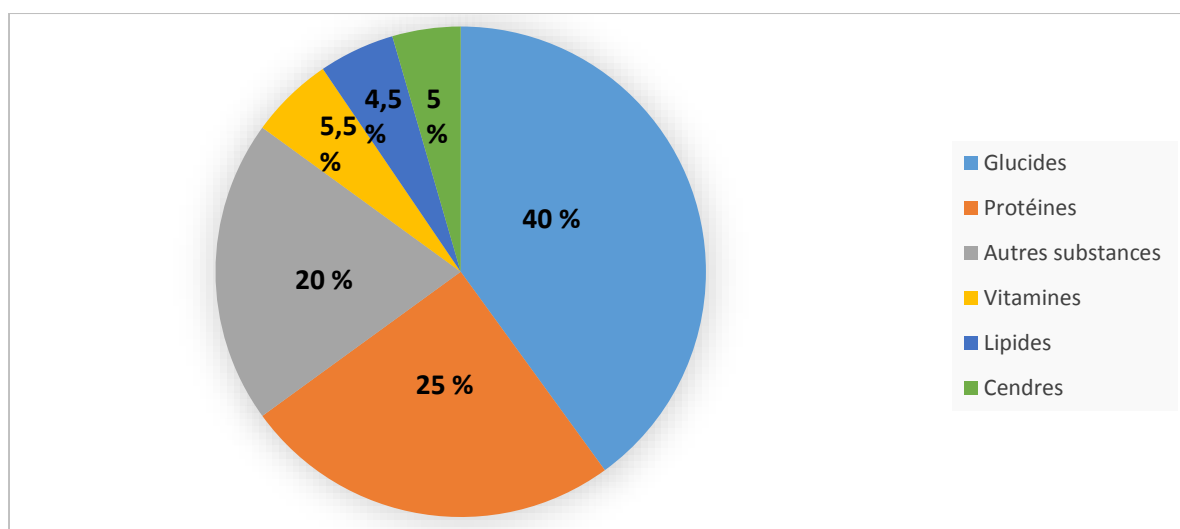
Une fois les pelotes rapportées à la ruche, les butineuses les cèdent à d'autres ouvrières spécialisées dans la confection de pain d'abeille. Elles enduisent les pelotes de salive et les tassent à l'aide de leurs mandibules dans les alvéoles situées au dessus et à côté du couvain (**Jean-Prost, 2005**).Il se conserve grâce aux fermentations dues aux sécrétions salivaires riches en enzymes (**Apimondia, 2001**). Une fois l'alvéole remplie à environ la moitié de son volume, les ouvrières cilières l'operculent avec une membrane de cire il se peut qu'une couche de miel ou de propolis soit ajoutée avant la fermeture (**Jean-Prost. 2005**). La température et l'humidité de l'environnement ainsi créé dans l'alvéole augmentent, le pollen germe et se détache de son enveloppe devenant une masse homogène et compacte. Les transformations naturelles qui pourraient altérer le pollen ainsi stocké sont bloquées par l'action de micro-organismes présents dans l'atmosphère de la ruche et dans le pollen. L'operculation des alvéoles confine un environnement anaérobie à une température de 38°C mettant en route des fermentations indispensables pour la transformation du pollen en pain d'abeille (**Apimondia, 2001**).

### I.1.6. Composition chimique

La composition chimique du pollen des fleurs varie en fonction de leur origine botanique et géographique comme indiqué dans le tableau I et la figure 5 (Campos et al., 2008).

**Tableau I** : Les principaux composés de pollen.

<b>Eau</b>	La teneur en eau est différente selon l'analyse est pratiquée avant ou après séchage en vue de sa bonne conservation (Donadieu, 1983).
<b>Lipides</b>	La plupart des pollens que récoltent les abeilles contiennent du cholestérol et du 2.4-méthylénecholestérol (Campos et al., 2008).
<b>Glucides</b>	La majorité des glucides est représentée par le glucose et le fructose, issus du nectar utilisé pour façonner les pelotes et la minorité par d'autres sucres et de l'amidon (Blanc., 2010).
<b>Protéines</b>	Elles sont principalement représentées par les acides amines, la proline ou les acides amines essentiels, par des enzymes exemple l'amylase, certaines phosphatases, des transférases et l'invertase, ainsi que par des cofacteurs enzymatiques comme le NAD, le glutathion, la biotine et certains nucléosides (Blanc, 2010).
<b>Vitamines</b>	Les vitamines du groupe B sont les plus représentées dans le pollen, la vitamine C, la vitamine E (tocophérol) et la provitamine A ( $\beta$ -carotène) (Donadieu, 1983).
<b>Composés phénoliques</b>	Les teneurs en polyphénols sont très élevés dans le pollen. Ce sont des polyphénols à chaîne courte, tels que les flavonoïdes (Arràez-Romàn et al., 2007).
<b>Autres composés</b>	le calcium, le chlore, le cuivre, le fer, le magnésium et le manganèse. Il contient également certaines substances antibiotique, bactériostatique, des hormones de croissances (gibbérélines) (Donadieu, 1983).



**Figure 05** : Pourcentage des différents composants du pollen (Phillipe, 1999).



### I.1.7. Propriétés biologiques du pollen

Le pollen possède de nombreuses propriétés notamment au niveau métabolique, nutritif et énergétique, telles que :

- Propriétés dépurative et antioxydante.
- Propriétés antiseptiques et tonifiantes.
- Propriétés cardio-vasculaire (Ralentit le rythme cardiaque, renforce le cœur, diminue le temps de coagulation et améliore la résistance des capillaires).
- Propriétés digestive et anti-inflammatoire.
- Propriétés antibactérienne (**Boukraa, 2008**).

Le pollen peut être aussi utile dans certaines carences alimentaires, il serait bénéfique pour la reproduction, pour la croissance, pour le transit intestinal en traitant à la fois constipation et diarrhée, il ralentit par son action les effets sur certaines affections hépatiques, sur l'hypertension ou dans les troubles de la prostate. Il possède une action aphrodisiaque et sur l'arbre broncho-pulmonaire. Il est aussi efficace dans les troubles de la circulation veineuse et tout ce qui touche au réseau capillaire, il servirait de fortifiant en cas de fatigue psychique ou physique (**Donadieu, 1987**)

### I.1.8. Conservation du pollen

Le pollen peut se conserver de deux façons congélation et séchage:

**Congélation** : la congélation va permettre de conserver presque intégralement la valeur nutritive des pelotes du pollen sous leur forme pure. 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 (**Cousin, 2014**), congelé le jour de sa récolte pour conserver ses propriétés (**blanc,2010**).

**Séchage** : consiste à réaliser un séchage de couches minces de pelotes du pollen à l'aide d'un courant d'air chaud à contre-courant. Ce séchage a lieu à un maximum de 45°C pendant 10 heures et en absence de lumière. On peut aussi réaliser ce séchage à l'aide de rayons infrarouges (**Cousin, 2014**). Il sera ensuite stocké dans un endroit sec pour limiter le risque d'insectes, d'acariens ou de processus d'oxydation, à l'abri de la lumière et de la chaleur. Toutefois, ce pollen aura perdu de son potentiel thérapeutique, par perte de ses composants volatiles (**blanc, 2010**).

## I.2. Radicaux libres et systèmes antioxydants

### I.2.1. Radicaux libres

#### I.2.1.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié dit célibataire. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso *et al.*, 2006).

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques), tel que le radical hydroxyle, l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène (Eau oxygénée) etc. (Tableau II) (Haton, 2005).

**Tableau II** : Principaux radicaux libres avec leurs formules chimiques.

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

Les radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les résidus des réactions énergétiques, de défense ou les médiateurs tissulaires, cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense (Favier, 2003). Ils sont des espèces réactives de l'azote (RNS) ainsi que espèces réactives de l'oxygène (ROS). Lorsqu'ils sont en surcharge, ils ne peuvent pas être détruits, leur accumulation alors dans le corps provoque le stress oxydatif (Lien AI Pham-Huy *et al.*, 2008).

## I.2.2. Stress oxydatif

### I.2.2.1. Définition

On peut définir la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées, suite à un déséquilibre lié, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante, soit à une production accrue d'DRO (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

### I.2.2.2. Pathologies associées au stress oxydant

Le stress oxydant est la cause principale du développement de nombreuses pathologies. Il est potentiellement impliqué dans le développement du vieillissement ou de pathologies associées à ce dernier, le cancer (oxydation de l'ADN), maladies cardio-vasculaires (oxydation des lipides) aussi l'augmentation du stress oxydant et semblent impliqués dans l'apparition des complications du diabète (**Haleng et al., 2007**).

## I.2.3. Systèmes antioxydants

### I.2.3.1. Définition

Le terme "antioxydant" est défini par plusieurs façons, Dans la littérature. Le mot antioxydant, signifie "quelque chose qui est opposé à oxydation. "Antioxydant est résistant à l'oxydation ou inhibe les réactions induites par l'agent oxydant (**Damir et al., 2014**).

Un antioxydant peut être défini comme toute substance ou molécules capables de réduire les effets de l'oxygène, significativement retarde ou empêche l'oxydation (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

Les antioxydants sont capable de piéger les radicaux libres en captant l'électron célibataire, en les transformant en molécules ou en ions stables (**Favier, 2003**).

### I.2.3.2. Origine ou sources des antioxydants

On distingue deux sources d'antioxydants: l'une est exogène apportée par l'alimentation essentiellement les fruits et les légumes (antioxydants non enzymatiques), l'autre est endogène représentée par des enzymes (antioxydants enzymatiques) (**Haleng et al., 2007**).

Le tableau III suivant montre quelques principaux antioxydants enzymatiques et non enzymatiques :

**Tableau III:** 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

### Les antioxydants enzymatiques

On cite quelques antioxydants enzymatiques :

#### Catalase (CAT)

La catalase (E.C. 1.11.1.6) a été purifiée à partir d'érythrocytes humains, catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène  $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$  (Haleng et al., 2007).

#### Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est une scléroprotéine qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique (Haleng et al., 2007).

#### Glutathion réductase (GRx)

Le glutathion réduit (GSH), consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (Haleng et al., 2007).

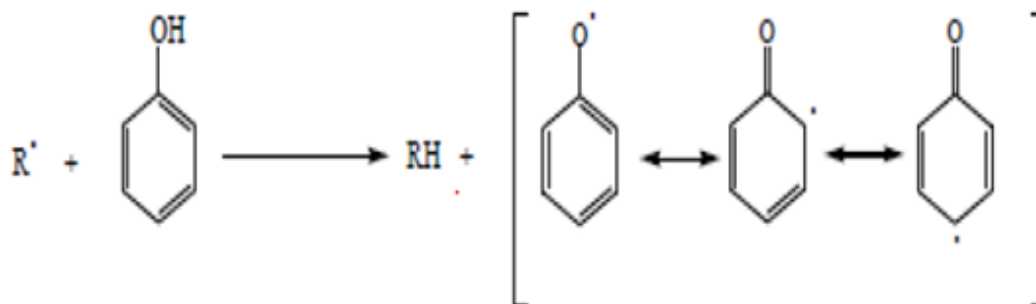
## Les antioxydants non-enzymatiques

Pour les antioxydants non enzymatiques ils sont divisés en antioxydants métaboliques et antioxydants nutritifs:

- **Les antioxydants métaboliques:** ce sont des antioxydants endogènes exemple, l'acide lipoïde, glutathion, L-arginine, coenzyme Q10, mélatonine, acide urique, bilirubine, protéines chélatant les métaux, transferrine, etc.
- **les antioxydants nutritifs:** Ce sont des antioxydants exogènes exemple la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, trace métaux (sélénium, manganèse, zinc), polyphénols, oméga-3 et les acides gras oméga-6, etc (Lien Al Pham-Huy *et al.*, 2008)

- **Les composés phénoliques**

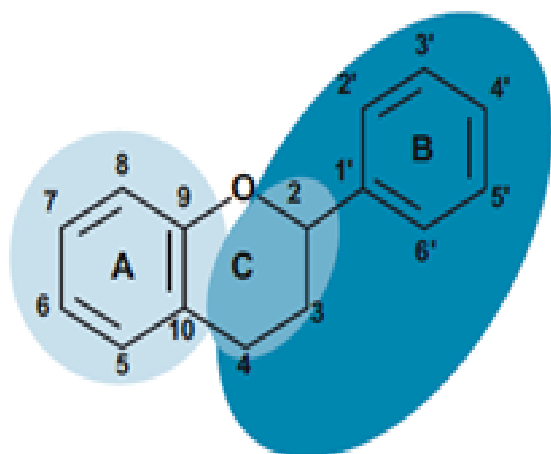
Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dérivés du pentose phosphate, shikimate et du phenylpropanoïde. Ils sont omniprésents chez les plantes, ils sont une partie essentielle de l'alimentation humaine. Structurellement caractérisés par la présence d'un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles, pouvant être acylés ou glucosylés. Ils peuvent être d'une simple molécule phénolique à celle d'un polymère complexe de haut poids moléculaire et malgré sa diversité structurelle, le groupe de composés sont souvent dénommé "polyphénols". Les composés phénoliques présentent un large éventail de propriétés, telles que anti-allergénique, antiathérogène, anti-inflammatoire, antimicrobien, effets anti thrombotiques, cardioprotecteurs et vasodilatateurs, et antioxydant qui dépend de sa structure, en particulier des nature des substitutions sur les cycles aromatiques et de nombre et la position des groupes hydroxyles (Balasundram *et al.*, 2006).



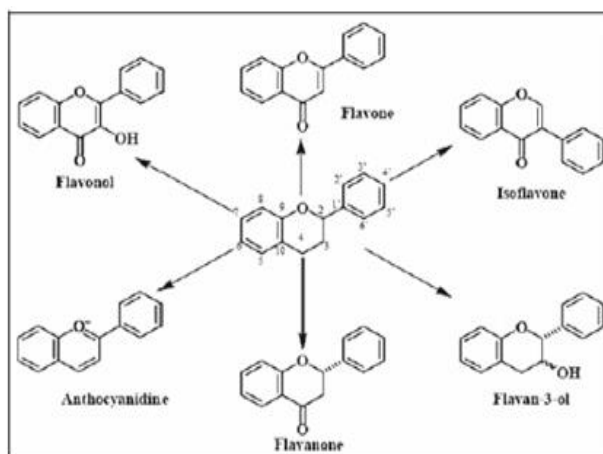
**Figure 06 :** Mécanisme d'action des antioxydants phénolique (Balasundram *et al.*, 2006)

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent une classe de polyphénols, ayant un squelette en C6-C3-C6. Ils constituent le plus grand groupe de plantes phénoliques et ils sont des composés de bas poids moléculaire, composé de quinze atomes de carbone. Pour sa structure les flavonoïdes sont constitués de deux anneaux aromatiques A et B, reliés par un carbone pont (Figure 07), généralement sous la forme d'un anneau hétérocyclique C, le cycle aromatique A est dérivé de l'acétate, tandis que l'anneau B est dérivé de phénylalanine (**Balasundram et al., 2006**). Et il existe plusieurs groupes de flavonoïdes, qui se distinguent par le degré d'oxydation de l'hétérocycle central en C3 dont les principaux sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (Figure 08) (**Chira et al., 2008**).



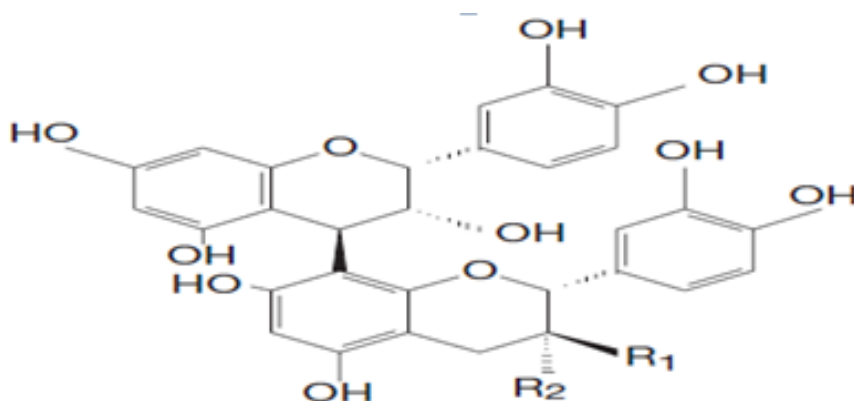
**Figure 07 :** structure de base des flavonoïdes  
(Chira et al.,2008)



**Figure08 :** Principaux groupes des flavonoïdes  
(Chira et al.,2008)

- **Les tanins**

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes, existent notamment dans les caroubes, les fèves sèches, le thé et le vin, l'écorce des grenades, les grains, tels que le sorgho et l'orge. Ils sont doués d'un pouvoir antioxydant très élevés. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes: les tanins condensés (tanins catéchiques = proanthocyanidols) et les tanins hydrolysables (Figure 10) (**Derbel et Ghedira., 2005**).

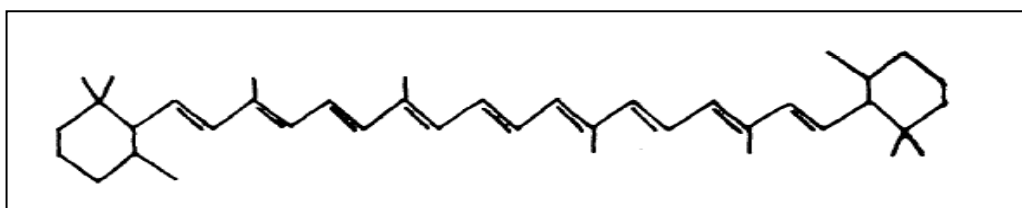


**Figure 9 :** structure des proanthocyanidine (Derbel et Ghedira., 2005 ).

- **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles intensément colorés synthétisé par les plantes et les micro-organismes et sont présents dans de nombreux aliments, en particulier les fruits, les légumes, et poisson. Ils sont largement distribués dans la nature et ont des fonctions très variées et nombreuses. Les caroténoïdes peuvent interagir avec les radicaux libres dans trois voies principales, soit par transfert d'électrons ou hydrogène abstraction ou par l'ajout d'une espèce radicale (EL-Agamey et al., 2004).

Ils sont considérés comme des antioxydants efficaces. Pour leurs structures tous les caroténoïdes dérivent d'une structure linéaire ( $C_{40}H_{56}$ ) avec de nombreuses doubles liaisons. Il existe plusieurs groupes de caroténoïdes, le plus répandu est cependant la  $\beta$ -carotène (provitamine A) (Figure 9) qui se retrouve dans plusieurs aliments tels que l'abricot, le melon, la carotte, les légumes verts (Haleng et al., 2007) .



**Figure 10 :** la structure de caroténoïdes (la  $\beta$ -carotène)(Ybert., 1976).

## I.2.4 Activité antioxydante

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action: éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés. Les polyphénols, naturellement présents dans les aliments ou formés au cours des procédés de transformation sont considérés comme éliminateurs des radicaux libres

Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH), anion superoxyde ( $O_2^-$ ) et radicaux peroxylipidiques grâce à leurs groupements hydroxyle ( $C_3-OH$ ) fortement réactifs (**Pietta, 2000**).

Chélation des cations métalliques par les polyphénols inhibent la formation des radicaux libres).

Les composés phénoliques inhibent la peroxydation lipidique par capture directe des composés radicalaires et interrompent la propagation de la réaction en chaîne radicalaire (**Havsteen, 2002**).

Les caroténoïdes neutralisent les radicaux libres par transfert d'hydrogène selon la réaction suivante:  $R^\bullet + Car-H \rightarrow RH + Car^\bullet$ . Ainsi ils sont capables d'inhiber le radical peroxyde ( $ROO^\bullet$ ) selon la réaction:  $Car-H + ROO^\bullet \rightarrow Car^\bullet + ROOH$

Les caroténoïdes sont des piègeurs très efficaces contre l'oxygène singulet, ce dernier va transférer son énergie d'excitation vers le caroténoïde qui va revenir à son état initial par la dissipation de cette énergie sous forme de chaleur (**Dutta et al., 2005**).



*Chapitre II*  
*Matériels et Méthodes*

## II. Matériels et méthodes

A l'instar des études réalisées sur le pollen, l'objectif de notre étude est de doser des antioxydants dans quelques échantillons de pollen de quelques régions de Bejaia et l'estimation de leur activité antioxydante. Cette activité a été évaluée par le biais des tests suivants : pouvoir réducteur, l'activité anti radicalaire du radical libre (DPPH), l'activité anti radicalaire ABTS, test FRAP. Avant d'entamer cette évaluation on doit d'abord préparer les extraits des différents échantillons.

### II.1. Echantillonnage

Le travail est mené sur quelques échantillons de pollen apicole (Figure 11), récoltés dans différentes régions de Bejaia en 2018 (Tableau IV). Chaque échantillon de pollen, est broyé à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir des poudres de pollen (Figure 12).

**Tableau IV:** Régions de récolte des échantillons dupollen.

Echantillon	Région de récolte
P1	Chemini
P2	Adekar
P3	Benikssila
P4	Timezrit
P5	Toudja
P6	Akbou
P7	Fnaia

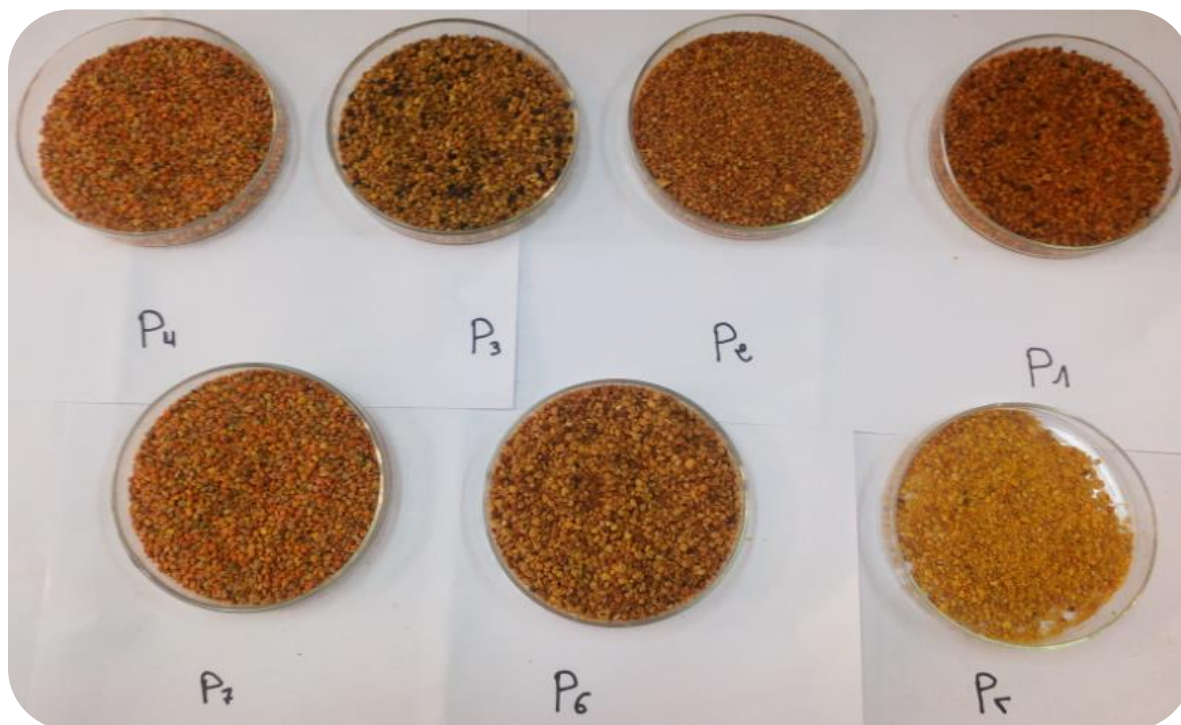


Figure 11 : les échantillons du pollens analysés.

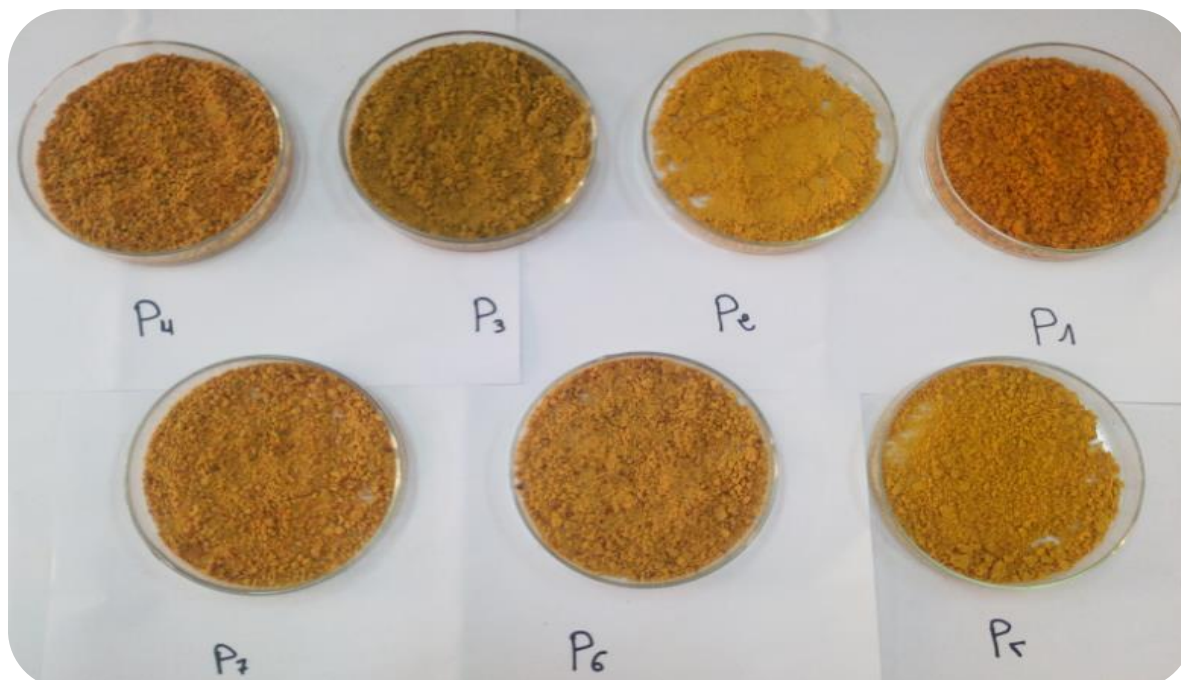


Figure 12: les échantillons du pollen broyé.

## II.2. Préparation des extraits éthanoliques du pollen

Une quantité de 0,5 g de pollen est ajoutée à 70 ml d'éthanol pure ( 95 % ). Après agitation pendant 2h sur une plaque agitatrice, les mélanges sont filtrés à l'aide d'un papier filtre. Les filtrats obtenus sont représentés dans la (figure 13).



**Figure 13:** les extraits de chaque échantillon du pollen.

## II.3. Analyse pollinique

L'analyse pollinique est une méthode qui consiste à déterminer l'origine botanique afin de pouvoir en observe la morphologie sur une lamelle microscopique des échantillons du pollen.

Une quantité de 1g de pollen broyé dissoute dans 50 ml d'eau distillée, agitation pendant 20 min, prélevé un volume de 60  $\mu$ l de la solution puis l'étalé sur une lame en verre puis séchée. Après séchage la lame recouverte avec une lamelle, dont les bords sont scellés avec verni à angle. L'observation au microscope optique est réalisée avec un grossissement (Gx10, Gx40). L'identification des graines de pollen est effectué grâce à quelque références pollinique (ensemble de différentes forme du pollen) (Louveaux et al., 1978).

## II.4. Analyse physico-chimiques

### II.4.1. Taux de Brix

Le Brix exprime le pourcentage des solides solubles contenus dans un échantillon en solution, le total de tous les solides dissous dans l'eau, incluant les sucres, sels, protéines et les acides (Messaid, 2008).

1g de pollen broyé dans 10ml d'eau distillée, agitation pendant 20min, après filtration, une goutte de la solution aqueuse du pollen préparée est placée sur la surface du prisme du refractomètre a fin de déterminer le Brix.

### II.4.2. Humidité

La détermination du taux d'humidité des échantillons du pollen se fait selon la procédure suivante: peser 2g de différents pollens broyés puis les mettent dans une étuve a 100°C jusqu'à ce que son poids reste constant, les résultats sont exprimés en pourcentage (Messaid, 2008).

**P0**: poids de pollen broyé avant séchage.

**P1**: poids de pollen broyé après séchage.

**P**: prise d'essai (2g).

$$H\% = [(P0 - P1) / P] * 100$$

### II.4.3. Couleurs

La détermination de la couleur de différents échantillons du pollen est faite selon la méthode de **Bath et Singh.(1999)**. Pour cela, une quantité de 0,014 g est solubilisée dans 2 ml d'éthanol (même rapport avec notre extrait), Agitation après filtration. Selon la méthode de quantification spectroscopique l'absorbance est lue à 450 nm.

### II.4.4. Dosage des protéines

La teneur en protéines des différents échantillons du pollen est déterminée par la méthode de Bradford. C'est une méthode colorimétrique dans laquelle un colorant « le bleu de coomassie G250 » de couleur vert foncé en milieu acide, devient bleu en se fixant aux groupements  $\text{NH}_3^+$  des protéines (Bradford, 1976). 100  $\mu\text{l}$  d'extrait du pollen est ajoutée a 5 ml de réactif de Bradford, après homogénéisation, l'absorbance est lue à 595 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Sérum Albumine Bovin par 100g d'échantillon (mg EBSA /100g) (Annexe I, figure 7).

## II.5. Dosage des antioxydants

### II.5.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits du pollen a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode de **Ribéreau-Gayon et al. (1982)**. Cette dernière est basée sur la réaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) avec l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des composés phénoliques, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ), la coloration bleu produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans la solution.

La teneur en composés phénoliques est évaluée selon la méthode décrite par **Naithani et al. (2006)**. 100  $\mu$ l d'extrait du pollen est additionné à 100  $\mu$ l Folin-Ciocalteu et 2 ml de la solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à (2%), après incubation à l'obscurité pendant 30min, l'absorbance est lue à 750 nm. les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g d'échantillon (mgEAG/100g) (Annexe I, figure 1).

### II.5.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des végétaux et assurent la protection des tissus contre les agressions externes (**Hadri, 2015**). Ces composés sont aussi considérés comme des antioxydants puissants qui ont la capacité d'éliminer les radicaux libres (**Narayana et al., 2001**).

Le dosage des flavonoïdes est estimé selon la méthode décrite par **Al et al. (2009)**. 1ml d'extrait du pollen mélangée avec 4ml d'éthanol et 300  $\mu$ l de nitrite de sodium ( $NaNO_2$ ) à (5%), 5min après, un volume équivalent de chlorure d'aluminium (10%) est additionné et après 6 min, 2 ml de soude (1M) y sont ajoutés. L'absorbance est lue à 510 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de la catéchine par 100g d'échantillon (mgECAT/100g) (Annexe I, figure 2).

### II.5.3. Dosage des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes est réalisée suivant la méthode **Sass-Kiss et al. (2005)**. 20 ml d'un mélange de solvants de rapport (2 / 1 / 1) (hexane / acétone / éthanol) respectivement, ajoutée 0,5 g du pollen, après agitation pendant 2h, récupération de la phase hexane, l'absorbance est lue à 450 nm. les résultats sont exprimés en mg équivalent de la  $\beta$  carotène par 100g d'échantillon (mgE $\beta$ Carotène/100g) (Annexe I, figure 3).

## II.5.4. Dosage des proanthocyanidines

La teneur en proanthocyanidines est estimée selon la méthode de **Maksimovic et al.(2005)**. 300 µl d'extrait du pollen, plus 2ml de réactif HCl/butanol de rapport (2/3) respectivement, incubation pendant 1h à 95 °C dans un bain marie, l'absorbance lue à 530 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de la catéchine par 100g d'échantillon (mgECAT/100g) (Annexe I, figure 4).

## II.6. Activités antioxydants

### II.6.1. Activité anti radicalaire DPPH

La molécule de DPPH (2,2-diphinyl-1-picrylhydrazyl) est définie comme un radical libre stable par la vertu de la délocalisation de l'électron disponible, qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption. Il réagit avec des groupements amine, les phénols et les acides. Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (DPPH<sub>2</sub>) avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle due à la présence de groupement picryl et l'absorbance est lue à 517 nm (**Gulcin et al., 2003**).

L'activité antiradicalaire DPPH estimée selon la méthode d'écrite par **Meda et al.(2005)**. 100 µl d'extrait de pollen, mélangé avec 1ml de solution de DPPH suivi d'une homogénéisation, Après 15 min à l'obscurité l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon la formule suivante:

**Abs C:** Absorbance du control.

**Abs E:** Absorbance d'échantillon.

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



## II.6.2. Activité anti radicalaire ABTS

La méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical cation ABTS<sup>•+</sup>, acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Le radical est formé par l'oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou le persulfate de potassium (**Re et al., 1999**).

L'activité antiradicalaire ABTS évaluée par la méthode décrite par **Re et al. (1999)**. Un volume de 100 µl d'extrait du pollen est mélangé avec un volume de 1ml d'ABTS, L'absorbance du mélange est lue après 7 min à 734 nm. La différence d'absorbance entre la solution d'ABTS en présence et en absence de l'échantillon reflète le potentiel des composés responsables de cette activité à réduire ce radical. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante:

**Abs C:** Absorbance du control.

**Abs E:** Absorbance d'échantillon

$$\% = \frac{AbsC - AbsE}{AbsC} \times 100$$

## II.6.3. Pouvoir réducteur

Beaucoup d'études ont indiqué la présence d'une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance réductrice (**Bentabet et al., 2014**). Cette méthode est utilisée pour évaluer la puissance réductrice des antioxydants des extraits via la réduction du fer ferrique (Fe<sup>+3</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>+2</sup>) (**Koula et al., 2014**).

Le pouvoir réducteur réalisée selon la méthode décrite par **Beretta et al. (2005)**. Un volume de 500 µl d'extrait du pollen, plus un volume de 1500 µl de tampon phosphate, et 1500 µl de potassium hexacyanoferrate, homogénéisation, incubation à 50°C dans un bain marie pendant 20 min, Après incubation ajoutée 1500 µl d'acide trichloracétique (TCA) au mélange, prélevé un volume de 1250 µl de ce mélange est dilué dans 1250 µl de l'eau distillée (H<sub>2</sub>O), puis ajoutée 1250 µl de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>), homogénéisation, après 10 min l'absorbance est lue à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g d'échantillon (mgEAG/100g) (Annexe I, figure 5).



#### II.6.4. Test FRAP

Le test FRAP ou ferric reducing antioxidant power est basé sur la réduction d'un complexe ferrique tripyridyletriazine ferrique (TPTZ-Fe<sup>3+</sup>) en sa forme ferreux (TPTZ-Fe<sup>2+</sup>) par un antioxydant à faible pH. La solution de TPTZ a une couleur bleu intense dont le maximum d'absorbance est de 593 nm.

Le test FRAP est évalué selon le protocole décrit par **Macimovic et al.(2005)**. 100 µl d'extrait du pollen (dilué 1/5: 100 µl d'extrait plus 400 µl d'éthanol), ajoutée 1mlde réactif de FRAP ( rapport ( 100 . 10 . 10 ), 100 ml tampon acétate de sodium 300 Mm et 10 ml de TPTZ 10 Mm, 10 ml de FeCl<sub>3</sub> 20 Mm),Après 5min l'absorbance lue à 593 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g d'échantillon(mgEAG/100g) (Annexe I, figure 6).

#### II.7. Analyse statistique

Tous les résultats obtenus sont la moyenne de 3 essais pour chaque échantillon. Le programme Microsoft office Excel 2007 est utilisé pour calculé les concentrations, les moyennes, les écatypes, et les coefficients de corrélation.

Utilisation de logiciel STATISTICA7.1, pour faire 3 testes différents tels que, la matrice de corrélation, une analyse de la variance (ANOVA), afin de mettre en évidence les différences significative entre les échantillons du pollen pour chaque paramètre étudié, ainsi que des analyses multivariées ont été effectués (ACP).

*Chapitre III*  
*Résultats et Discussions*

### III. Résultats et discussions

#### III.1. Analyse pollinique

L'origine botanique du pollen est déterminée par analyse palynologique (microscopique) c'est-à-dire déterminé les plantes que les abeilles visitent, en recueillant les grains du pollen. Ces dernières varient en fonction de leur morphologie et caractéristiques telles que la forme, la taille, les ouvertures ainsi qu'en terme de couleur et apparence (**Damir et al., 2014**).

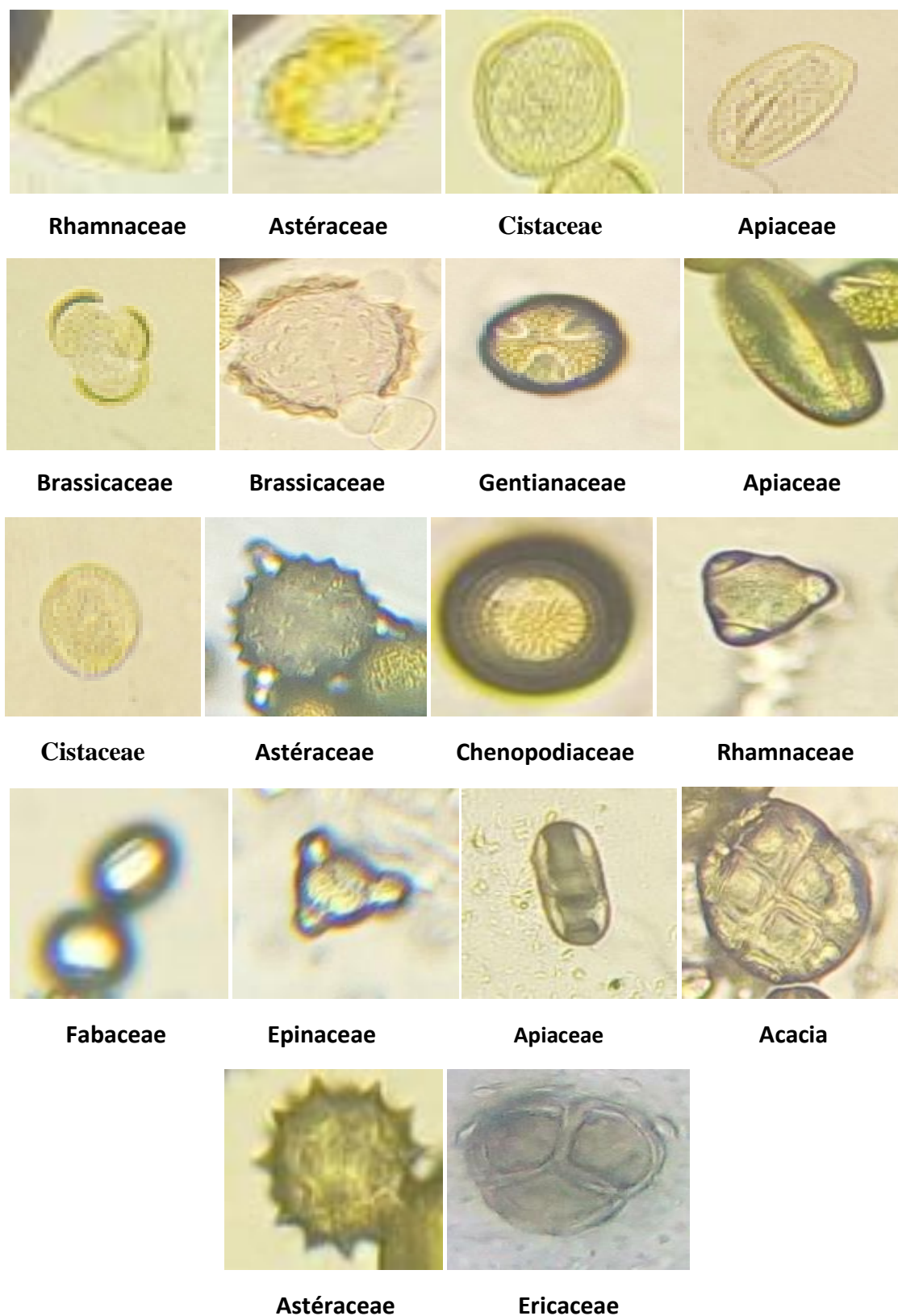
Les pollens identifiés ont été classés selon leurs fréquences polliniques suivantes, pollen dominant (>45%), pollen d'accompagnement (16-45%), pollen minoritaire (3-15%) et pollen très minoritaire (1-3%) (**Ouchmoukh et al., 2007**).

L'analyse microscopique des lames a mis en évidence la présence de différentes particules dont les grains du pollen ou les pollens sont répartis en cinq échantillons qui sont Monofloraux ainsi que deux échantillons sont Polyfloraux qui sont déterminent par rapport a un pourcentage varie dans chaque forme existé dans les sept échantillons analysés. Ceci reflète la diversité florale des régions où les miels ont été récoltés et indique que l'origine botanique du miel est liée à son origine géographique (Tableau V).

Cette variation est liée à divers facteurs climatiques principalement la vitesse du vent et l'évapotranspiration qui interviennent dans la dispersion des pollens dans l'atmosphère qui diffère d'un jour à l'autre, d'un pays à un autre et d'une région à une autre, ainsi que d'une ville à une autre (**Tossou et al., 2016**).

Tableau V : Pourcentages et spectres pollinique des échantillons du pollens analysés.

Échantillons	Pollens dominants (45%)	Pollens d'accompagnement (16-45%)	Pollens minoritaires (3-15%)	Pollen très minoritaire ( $\leq 3\%$ )	Origine botanique
P1	Astéraceae 46%	Chenopodiaceae 27%	Lamiaceae 13% Apiacées 12%	Brassicaceae 2%	Monofloraux
P2	Gentianaceae 45%	Astéraceae 22% Chenopoiaceae 15%	Apiaceae 14% Epinaceae 6% Chenopoiaceae 10%	Ericaceae 3%	
P3	Acacia 70%	Chenopodiaceae 20%	Rhamnaceae 8%	Apiaceae 2%	
P6	Rhamnaceae 45%	Chenopodiaceae 20% Asteraceae 23%	Fabaceae 9 %	Ericaceae 3%	
P7	Apiaceae 53%	Cistaceae 35%	Astéraceae 12%	Absence	
P4	Absence	Apiaceae 35% Brassicaceae 18% Chenopodiaceae 26%	Astéraceae 14% Rhamnaceae 7%	Absence	Polyfloraux
P5	Absence	Astéracées 28% Epinaceae 34%	Chenopodiaceae 15% Brassicaceae 14%	Absence	



**Figure 14 :** Photographies de quelques formes des pollens identifiés dans les échantillons analysés (Grossissement x 40)

### III.2. Analyse physico-chimique

Le tableau suivant présente les résultats obtenus pour l'analyse physico-chimique des différents échantillons étudiés.

**Tableau VI** : Analyse physico-chimique des échantillons.

Echantillons	Analyses physico-chimiques			
	Brix ( en %)	Humidité (en %)	Couleur (Abs)	Protéine (mg EBSA/100g)
<b>P1</b>	6,16 ± 0,15 <sup>b</sup>	22,87 ± 0,63 <sup>c b</sup>	0,94 ± 0,02 <sup>a</sup>	1209,27 ± 330,56 <sup>b</sup>
<b>P2</b>	5,86 ± 0,05 <sup>c</sup>	26,14 ± 1,91 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,008 <sup>b</sup>	957,68 ± 220,92 <sup>b</sup>
<b>P3</b>	5,70 ± 0,10 <sup>c</sup>	22,39 ± 0,16 <sup>c a</sup>	0,25 ± 0,007 <sup>d</sup>	227,24 ± 196,80 <sup>c</sup>
<b>P4</b>	6,76 ± 0,05 <sup>a</sup>	24,18 ± 0,47 <sup>b</sup>	0,14 ± 0,002 <sup>f</sup>	1022,60 ± 159,65 <sup>b</sup>
<b>P5</b>	5,70 ± 0,10 <sup>c</sup>	22,58 ± 0,82 <sup>cb</sup>	0,38 ± 0,003 <sup>c</sup>	998,26 ± 243,47 <sup>b</sup>
<b>P6</b>	5,36 ± 0,20 <sup>d</sup>	21,71 ± 0,99 <sup>c</sup>	0,12 ± 0,004 <sup>g</sup>	292,17 ± 430,75 <sup>c</sup>
<b>P7</b>	6,66 ± 0,05 <sup>a</sup>	23,01 ± 0,66 <sup>c b</sup>	0,22 ± 0,004 <sup>e</sup>	1728,69 ± 340,86 <sup>a</sup>

Chaque valeur représente la moyenne ± écartype de chaque échantillon du pollen.

Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives a<b<c<d<e<f<g.

#### III.2.1. Taux de brix

Les valeurs du brix obtenues sont représentées sur le tableau VI et la figure 15. Pour la teneur en brix, la plus grande valeur des pollens analysés est celle de P4 (6,76%) et la valeur la plus faible est attribuée à l'échantillon P6 (5,36%), les échantillons du pollen ne révèlent pas une grande différence.

L'analyse statistique des échantillon a montré qu'il n'existe aucune différence significative ( $p < 0,05$ ) entre P2,P3,P5 et entre P4, P7. Le pollen P1 diffère significativement avec P5 ainsi d'autre échantillon(Annexe 3).

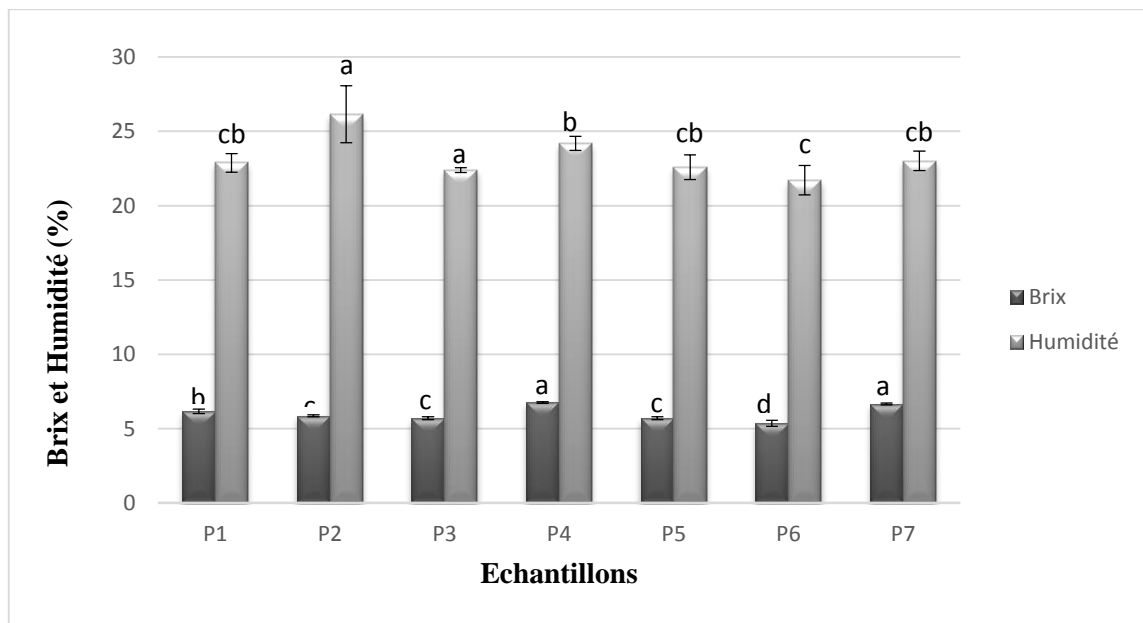
## II.2.2. Humidité (teneur en eau)

La teneur en eau est différente selon que l'analyse est pratiquée avant ou après séchage en vue de sa bonne conservation (**Donadieu, 1983**).

Concernant la teneur en eau, la plus faible valeur est enregistrée dans l'échantillon P6 de Akbou (21,71%) et l'échantillon P2 de Adekar présente la teneur la plus élevée (26,14%), par rapport aux autres échantillons qui sont classés selon l'ordre suivant: P2>P4>P7>P1>P5>P3>P6 (Tableau VI et figure 15).

Les échantillons du pollen analysés présentent une teneur en eau supérieur a celle du pollen de Brésil déterminée par **Almeida-Muradian et al. (2005)**[ 7,4% ] et même avec **Marcelo et al.(2011)**[4 à 12 %]. L'humidité du pollen peut être influencée par leurs conservations (stockage), la composition chimique, peut être aussi par le climat.

Le pollen P1 ne présente pas une différence significative ( $p < 0,05$ ) avec les pollen P4,P5,P6 et P7, aussi le pollen P2 ne présente pas de différence significative avec P3(Annexe 3).



**Figure 15 :** Taux de brix et d'humidité des différents échantillons.

### II.2.3. Couleur

Les couleurs des pollens sont tous aussi variables, elles varient du jaune pâle au noir, en passant par toutes les nuances du brun et du rouge (**Alméida-Muradian et al., 2005**).

Les résultats obtenus sur la couleur des sept échantillons étudiés sont représentées dans le tableau VI. Les pollens analysés enregistrent des absorbances qui varient entre 0,12 (P6) à 0,94(P1) selon l'ordre suivant: P1>P2>P5>P3>P7>P4>P6. La différence de couleur peut être expliquée par l'origine florale, géographique et la composition.

D'après l'analyse statistique, les pollen P1,P2,P3,P4,P5,P6 et P7 présentent une différence hautement significative ( $p<0,1$ )(Annexe 3).

### II.2.4. Dosage des protéines

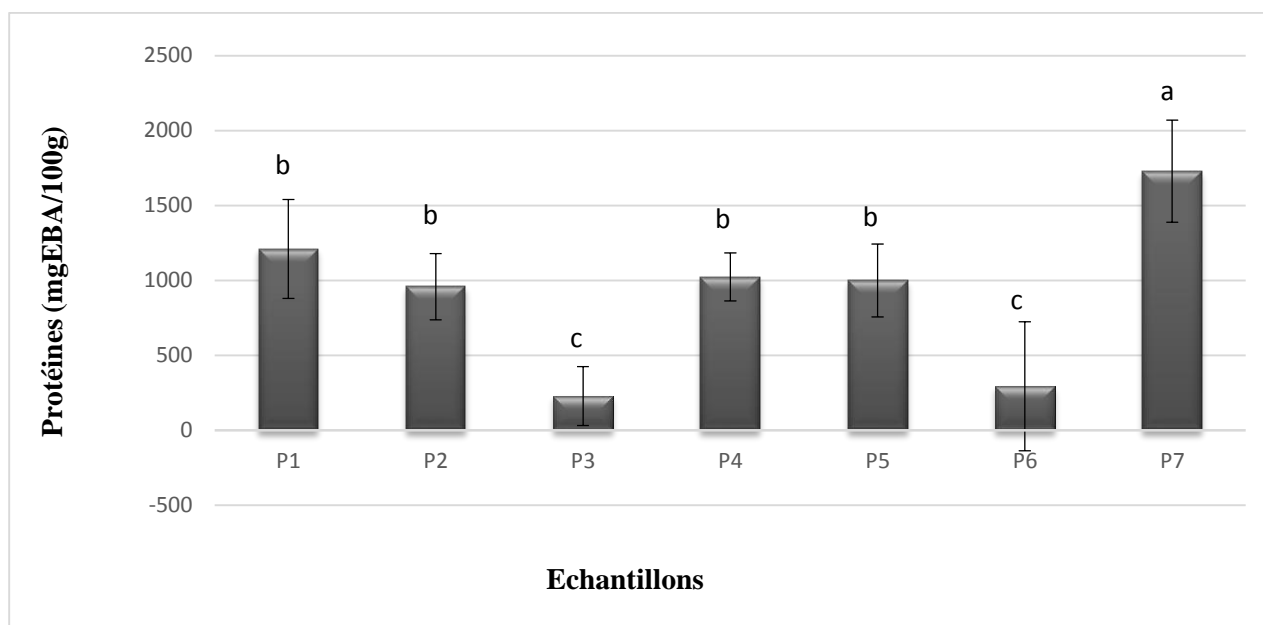
Les protéines, de l'ordre de 20%, sont aussi présentes dans le pollen. Elles sont principalement représentées par les acides amines comme l'hydroxproline, la proline ou les acides amines essentiels et par des enzymes **Blanc,2010**).

D'après le tableau VI et la figure 16, on remarque une grande variation dans les résultats de nos échantillons du pollen, ils sont classés par ordre croissant: P3<P6<P2<P5<P4<P1<P7 où la valeur la plus élevée est (1728,69 mgEBSA/100g) et la plus faible est (227,24 mgEBSA/100g).

Ces résultats sont largement inférieurs aux valeurs communiquées par **Yang et al. (2013)**[14860 à 28960 mgEBSA/100g] et également inférieur aux résultats obtenus par **Alksandar et al. (2015)**qui varient de 14830 à 27250 mgEBSA/100g.Ces variations de teneurs peuvent s'expliquer par l'origine géographique et botanique.

Les résultats obtenus d'après l'analyse statistique montrent que les échantillons P1,P2,P4,P5 et les pollens P3,P6 ne diffèrent pas significativement ( $p<0,05$ ),mais P7 diffère significativement avec ces derniers(Annexe 3).





**Figure 16 :** Teneurs en protéines des échantillons.

### III.3. Dosage des antioxydants

Les résultats obtenus pour les teneurs en antioxydants sont résumés dans les tableaux VII.

**Tableau VII :** La teneur en antioxydants des échantillons.

Echantillons	Teneur en antioxydants			
	Polyphénols (mg EAG/100g)	Flavonoïdes (mg EQ/100g)	Caroténoïdes (mgEABCA/100g)	Proanthoc-yanidines (mg EAG/100g)
<b>P1</b>	1094,43 ± 41,24 <sup>b</sup>	426,74 ± 43,00 <sup>a</sup>	85,17 ± 3,57 <sup>a</sup>	1331,90 ± 52,75 <sup>a</sup>
<b>P2</b>	1005,89 ± 17,17 <sup>c</sup>	263,54 ± 35,37 <sup>c</sup>	32,37 ± 3,56 <sup>c</sup>	986,40 ± 37,80 <sup>c</sup>
<b>P3</b>	1185,89 ± 35,04 <sup>a</sup>	314,27 ± 57,39 <sup>dc</sup>	18,60 ± 1,02 <sup>e</sup>	731,04 ± 74,0 <sup>d</sup>
<b>P4</b>	992,57 ± 99,10 <sup>cd</sup>	285,60 ± 3,819 <sup>c</sup>	12,27 ± 1,73 <sup>f</sup>	680,97 ± 52,75 <sup>d</sup>
<b>P5</b>	995,69 ± 45,43 <sup>c</sup>	169,81 ± 6,88 <sup>d</sup>	64,67 ± 6,68 <sup>b</sup>	1081,54 ± 52,03 <sup>b</sup>
<b>P6</b>	907,34 ± 24,74 <sup>d</sup>	177,53 ± 3,81 <sup>d</sup>	15,67 ± 1,39 <sup>fe</sup>	971,38 ± 60,70 <sup>c</sup>
<b>P7</b>	1155,75 ± 35,14 <sup>ba</sup>	367,20 ± 53,23 <sup>ba</sup>	25,84 ± 1,23 <sup>d</sup>	771,10 ± 31,26 <sup>d</sup>

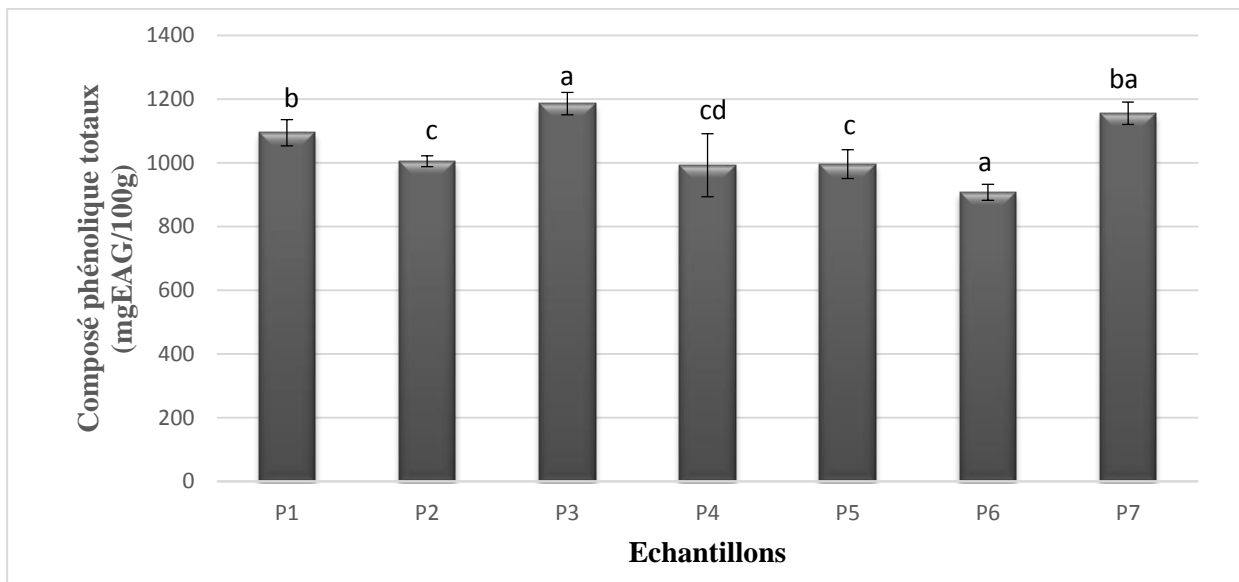
Chaque valeur représente la moyenne ± écartype de chaque échantillon du pollen.

Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives a<b<c<d<e<f

### III.3.1. Les composés phénoliques totaux

Les résultats de la présente étude montrent que la teneur en polyphénols des échantillons étudiés varient de 907,34 (P6) à 1185,89 (P3) mgEAG/100g. L'échantillon P6 enregistre la plus faible teneur, tandis que P3 enregistre la teneur la plus élevée. Sur la base des taux de ces composés, les échantillons sont classés selon l'ordre croissant:  $P6 < P4 < P5 < P2 < P1 < P7 < P3$  (Tableau VII). D'après la figure 17 il n'y a pas une grande différence des teneurs en polyphénols entre les sept échantillons. Ces résultats obtenus sont inclus dans l'intervalle rapportés par **Livis et al. (2009)** qui varient de 640 à 1640 mgEAG/100g.

De point de vue statistique il n'existe aucune différence significative ( $p < 0,05$ ) entre P3 et P7 et au même pour P2 et P5 aussi que P4 et P6, par contre le pollen P1 diffère significativement des autres échantillons (Annexe 3).



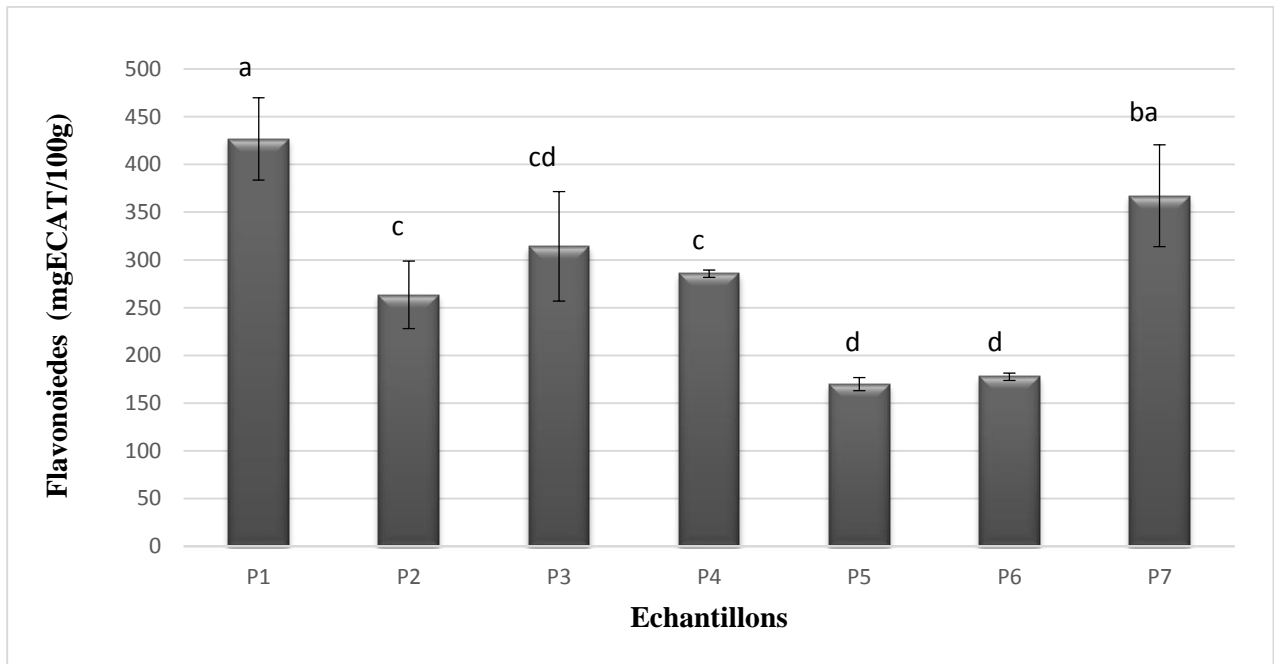
**Figure 17 :** Teneurs en composés phénoliques des échantillons.

### III.3.2. Les flavonoïdes

L'ensemble des résultats obtenus concernant le dosage des flavonoïdes des échantillons du pollen est représenté dans le tableau VII et la figure 18, qui montrent que la concentration en flavonoïdes enregistrée dans les sept échantillons varie considérablement de 169,81 à 426,74 mgECAT/100g. Les échantillons du pollen sont classés selon l'ordre croissant:  $P5 < P6 < P2 < P4 < P3 < P7 < P1$ .

La teneur en flavonoïdes du pollen obtenue dans cette étude est dans l'intervalle déterminé par **Marghitas et al. (2009)**, pour le pollen de Roumanie [60 à 1360 mgECAT/100g].

D'après l'analyse statistique les pollens P1 et P7 aussi P5 et P6 ainsi que P2, P3 et P4 n'ont pas présenté de différence significative ( $p < 0,05$ ) (Annexe 3).



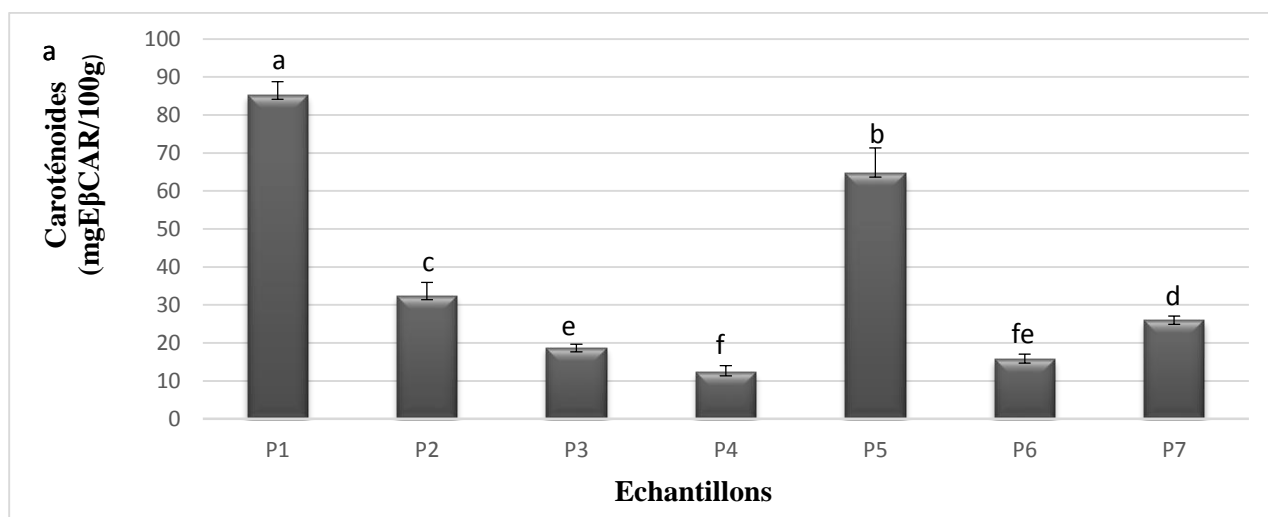
**Figure 18 :** Teneurs en flavonoïdes des échantillons.

### III.3.3. Les caroténoïdes

Les concentrations en caroténoïdes des pollens analysés varient de 12,27 à 85,17 mgE $\beta$ CA/100g. La valeur 12,27 (P4) représente la plus faible teneur en caroténoïdes par contre la valeur 85,17 (P1) c'est la teneur la plus élevée par rapport au P2, P3, P5, P6, P7 qui suivent cet ordre: P4 < P6 < P3 < P7 < P2 < P5 < P1 (Tableau VII et figure 19). La différence des teneurs en caroténoïdes des échantillons du pollen analysés peut être expliquée par leur différente origine botanique.

Les résultats obtenus pour les échantillons P3, P4, P6 et P7 sont inclus dans l'intervalle rapporté par **Almeida-Muradian et al. (2005)** qui varient de [0,049 à 24,9 mgE $\beta$ CA/100g], par contre les échantillons P1, P2 et P5 sont supérieurs à la limite maximale de cet intervalle.

Il existe une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre P3, P6 et entre P4, P6 tandis que P1, P2, P5 et P7 diffèrent significativement avec ces derniers (P3, P6, P4) et entre eux (Annexe 3).

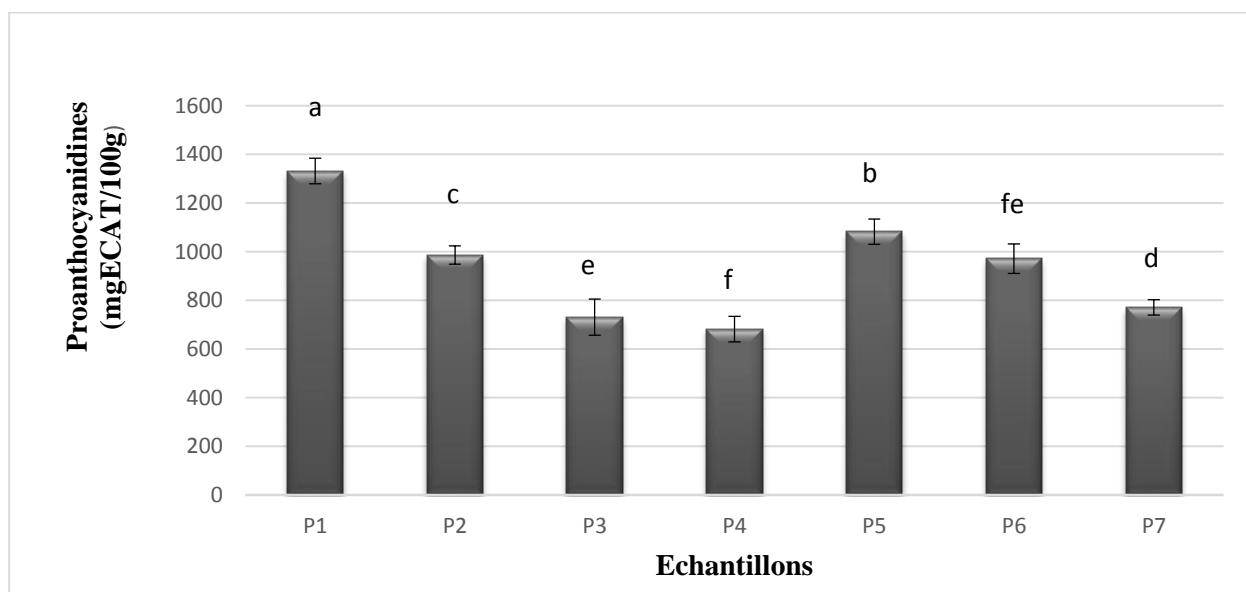


**Figure 19 :** Teneurs en caroténoïdes des échantillons.

### III.3.4. Les proanthocyanidines

Les teneurs en proanthocyanidines sont comprises entre 68,97 à 1331,90 mgEAG /100g. Le pollen P1 est le plus riche en proanthocyanidines tandis que le P4 le plus pauvre pollen. Les échantillons du pollen sont classés selon l'ordre suivant: P1>P5>P2>P6>P7>P3>P4 (Tableau VII, Figure 20).

L'analyse de la variance a révélé une différence significative ( $p < 0,05$ ) dans les teneurs en proanthocyanidine entre P1 et P5, par contre P2, P6 et P3, P4 et P7 ne présente pas une différence significative (Annexe 3).



**Figure 20 :** Teneurs en proanthocyanidines des échantillons.

### III.4. Activités antioxydantes

Les résultats d'évaluation des activités antioxydantes sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau VIII** : Activité antioxydantes des échantillons.

Echantillons	Activité antioxydante			
	DPPH (%)	ABTS (%)	FRAP (mg EAAG/100g)	Pouvoir réducteur (mg EAAG/100g)
P1	73,06 ± 0,66 <sup>a</sup>	94,50 ± 5,62 <sup>a</sup>	4261,28 ± 123,13 <sup>a</sup>	5528,40 ± 205,46 <sup>a</sup>
P2	61,51 ± 2,40 <sup>b</sup>	65,23 ± 1,09 <sup>d</sup>	2654,25 ± 116,12 <sup>c</sup>	4089,96 ± 149,58 <sup>c</sup>
P3	56,42 ± 1,88 <sup>c</sup>	72,16 ± 0,42 <sup>c</sup>	2987,24 ± 238,91 <sup>b</sup>	4723,01 ± 114,67 <sup>b</sup>
P4	47,13 ± 0,08 <sup>d</sup>	72,23 ± 2,91 <sup>c</sup>	2273,00 ± 63,10 <sup>d</sup>	4196,02 ± 219,87 <sup>c</sup>
P5	45,98 ± 1,54 <sup>d</sup>	59,73 ± 0,21 <sup>e</sup>	1587,72 ± 71,41 <sup>e</sup>	3887,78 ± 117,22 <sup>c</sup>
P6	46,51 ± 0,74 <sup>d</sup>	74,51 ± 1,33 <sup>c</sup>	1857,98 ± 301,37 <sup>e</sup>	4921,87 ± 411,53 <sup>b</sup>
P7	57,28 ± 1,99 <sup>c</sup>	84,86 ± 1,91 <sup>b</sup>	2929,33 ± 65,28 <sup>d</sup> <sup>cb</sup>	4736,26 ± 115,24 <sup>b</sup>

Chaque valeur représente la moyenne ± écartype de chaque échantillon du pollen.

Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives a<b<c<d<e<f<g.

#### III.4.1. Activité antiradicalaire DPPH

D'après les résultats obtenus dans le tableau VIII et la figure 21, le pouvoir antiradicalaire des échantillons étudiés vis-à-vis du radical DPPH varie de 45,96 % à 73,06 %. Le pollen de Chemini (P1) présente la meilleure activité antiradicalaire suivie respectivement par le pollen d'Adekar (P2), Fnaia (P7), Beni ksila (P3), Timezerit (P4), Akbou (P6) et en fin le pollen de Toudja (P5) qui présente l'activité antiradicalaire la plus faible. Ces résultats sont inclus dans intervalle obtenus par **Leja et al. (2007)** qui varient de 10,5 à 76,1%.

Les activités antiradicalaires du pollen P1 et P2 présentent des différence significatives ( $p < 0,05$ ), mais il n'existe aucune différence significative entre P3etP7 et entre P4,P5et P6(Annexe 3).

### III.4.2. Activité antiradicalaire ABTS

Pour les échantillons du pollen étudié, la meilleure activité antiradicalaire est enregistrée pour les pollens P1 (Chemini), P7 (Fnaia), P6 (Akbou), P4 (Timezrit), P3 (Beniksila), P2 (Adekar) et celui qui enregistre une faible capacité antiradicalaire est le pollen 5 (Toudja) (Tableau VIII, Figure 21).

Les résultats illustrés sur l'annexe 3 montrent que les activités antiradicalaires ne possèdent pas une différence significative ( $p < 0,05$ ), entre les pollens P3, P4 et P6, tandis que les pollens P1, P2, P5 et P7 enregistrent une différence significative.

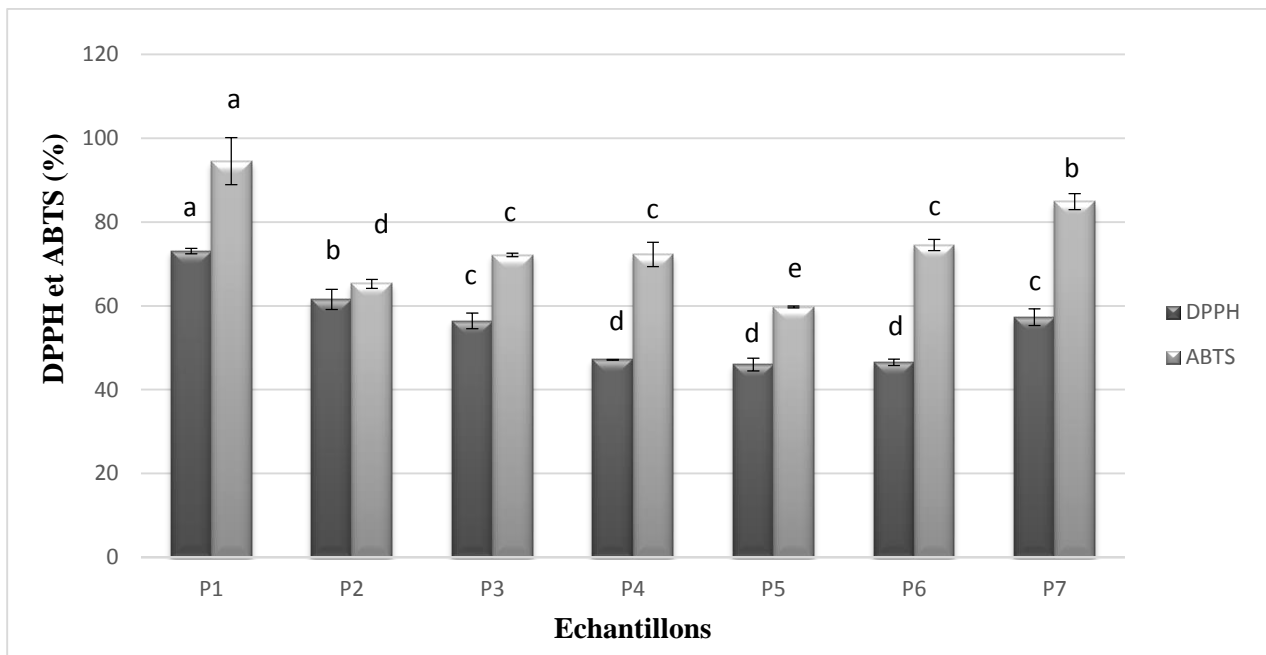


Figure 21 : DPPH et ABTS des échantillons.

### III.4.3. Pouvoir réducteur

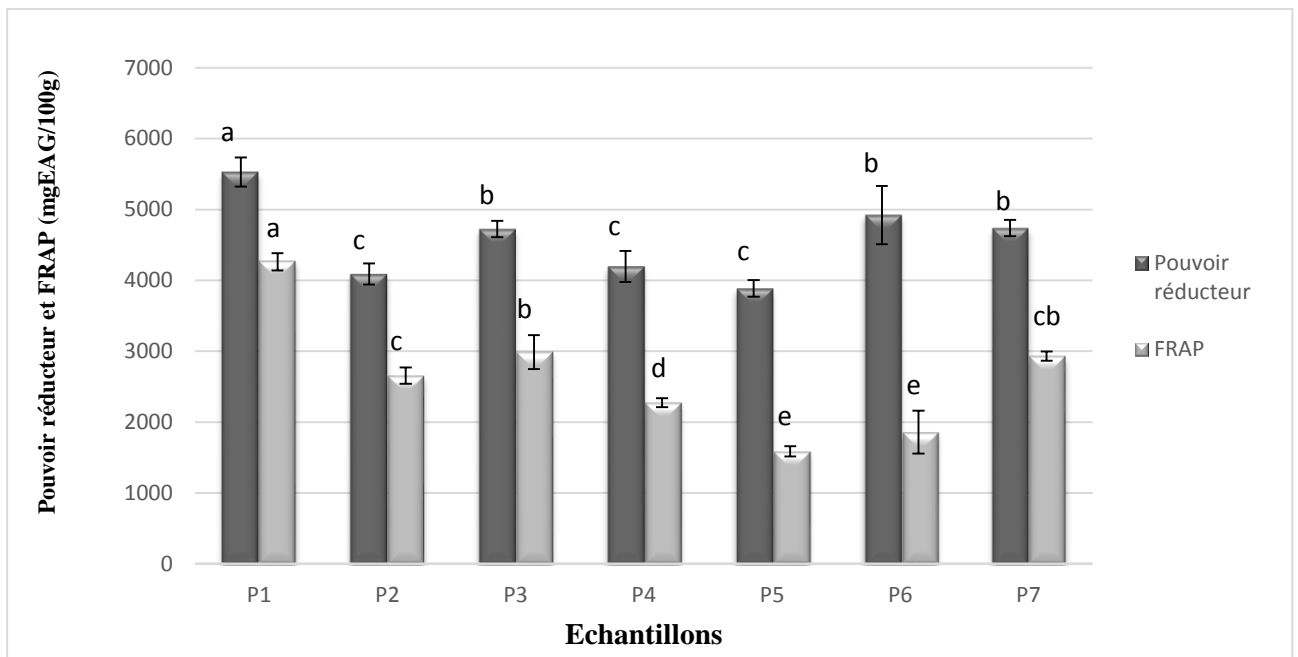
Le pouvoir réducteur des échantillons du pollen analysés est présenté sur le tableau VIII et la figure 22. D'après ces résultats, le pollen de Toudja (P5) présente un faible pouvoir réducteur suivie respectivement par ordre croissant : Adekar (P2) < Timezrit (P4) < Beni ksila (P3) < Fnaia (P7) < Akbou (P6) et on termine par le pollen de Chemini (P1) qui possède le meilleur pouvoir réducteur.

D'après l'analyse statistique le pollen 1 de Chemini présente une différence significative ( $p < 0,05$ ), avec tous les échantillons du pollen tel que P2, P3, P4, P5, P6 et le P7, tandis que il n'existe pas une différence significative entre P2, P4 et P5 et aussi entre P3, P6 et P7 (Annexe 3).

### III.4.4. Test FRAP

Pour les échantillons du pollen étudiés, la capacité réductrice du test FRAP varie de 1587,72 à 4261,26 mgEAG/100g, ces échantillons sont classés par ordre décroissant comme suite: P1>P3> P6> P2> P4> P6> P5 (Tableau VIII, figure 22).

L'analyse statistique de test FRAP a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre P2 et P7 et même pour P3 et P7 aussi que P5 et P6, par contre le pollen de Chemini et le pollen de Timezrit présente une différence significative entre eux et entre les autres échantillons analysés (Annexe 3).



**Figure 22 :** pouvoir réducteur et test FRAP des échantillons.

La variation de l'activité antioxydante des échantillons est peut-être attribuée aux origines botaniques, la présence d'agents antioxydants, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques (la qualité et la quantité des composés phénoliques 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).

### III.5. Analyse de corrélation

Pour montrer l'existence ou pas de corrélation entre les antioxydants et les activités antioxydantes et les paramètres physico-chimiques, plusieurs recherches ont été étudiées, la plupart des investigations confirment l'existence de corrélations positives et négatives entre les trois paramètres, par contre certaines indiquent qu'il n'existe pas de relation (El-Sayed, 2009).

### III.5.1. Corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les antioxydants

Une matrice de corrélation est établie entre les paramètres physico-chimiques et les antioxydants des échantillons du pollen étudiés (Tableaux I, II et III de l'annexe 4).

- Il existe une matrice de corrélation positive hautement significative ( $P < 0,01$ ) entre le brix et les protéines ( $r = 0,65$ ) et les flavonoïdes ( $r = 0,56$ ) (Tableau II de l'annexe 4).
- La couleur présente une corrélation significative ( $P < 0,05$ ) positive avec les flavonoïdes ( $r = 0,52$ ) (Tableau I de l'annexe 4) et une très haute corrélation ( $P < 0,001$ ) avec les caroténoïdes ( $r = 0,88$ ), et aussi avec les proanthocyanidines ( $r = 0,82$ ) (Tableau III de l'annexe 4).
- La teneur en protéines présente une corrélation ( $P < 0,05$ ) positive avec les flavonoïdes ( $r = 0,48$ ) (Tableau I de l'annexe 4). Cela montre que la teneur en protéines influence positivement sur la teneur en flavonoïdes.

### III.5.2. Corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les activités antioxydantes

Une matrice de corrélation est établie entre les paramètres physico-chimiques et les activités antioxydantes des échantillons du pollen étudiés (Tableaux I, II et III de l'annexe 4).

- Le brix et les protéines ne présentent aucune corrélation avec les activités antioxydantes. Cela indique que les activités antioxydantes des extraits du pollen ne sont pas dues aux protéines et le brix (Tableaux I, II et III de l'annexe 4).
- Une matrice de corrélation négative existe entre l'humidité et le pouvoir réducteur ( $P < 0,05$ ;  $r = -0,46$ ) (Tableau I de l'annexe 4). Cela indique que ce test pourrait être influencé négativement par l'humidité du produit analysé.
- La couleur présente une corrélation significative ( $P < 0,05$ ) positive avec l'activité antiradicalaire ABTS ( $r = 0,49$ ) et avec le pouvoir réducteur ( $r = 0,45$ ) (Tableau I de l'annexe 4) et une très haute corrélation ( $P < 0,001$ ) avec DPPH ( $r = 0,84$ ), et aussi avec le test FRAP ( $r = 0,73$ ) (Tableau III de l'annexe 4).



### III.5.3. Corrélation entre les antioxydants et les activités antioxydantes

Une corrélation enregistrée entre les antioxydants et les activités antioxydantes des échantillons de pollen étudiés (Tableau I, II et III de l'annexe 4).

- Des corrélations significative positive ( $P < 0,05$ ) sont constatée entre la teneur en polyphénols avec le DPPH ( $r = 0,46$ ) (Tbleau I de l'annexe 4) et une corrélation hautement significative avec le test FRAP ( $r = 0,60$ ) (Tableau II de l'annexe 4) et très hautement corrélé avec les flavonoïdes ( $r = 0,67$ ) (Tableau III de l'annexe 4).. En effet, les activités antioxydantes telles que le DPPH et le FRAP faibles ou fortes des échantillons du pollen peuvent être expliquée par leur teneur en polyphénols.
- Les teneurs en flavonoïdes sont très hautement corréliées ( $P < 0,001$ ) avec l'activité antiradicalaire DPPH et ABTS ainsi que test FRAP respectivement ( $r = 0,67$  ;  $r = 0,77$  ;  $r = 0,77$  ;  $r = 0,90$ ) (Tableau III de l'annexe 4) et hautement significative ( $P < 0,01$ ) avec le pouvoir réducteur ( $r = 0,58$ ) (Tbleau II de l'annexe 4). Ces résultat montrent que les activités antioxydantes des extrait du pollen due aux flavonoïdes, cela indique que les pollens riches en flavonoïdes exposent la plus forte activité antioxydante.
- Les caroténoïdes présentent une corrélation significative et très hautement significative respectivement avec le DPPH ( $r = 0,56$  ;  $P < 0,05$ ) (Tbleau I de l'annexe 4) et les proanthocyanidines ( $r = 0,87$  ;  $P < 0,001$ ) (Tbleau III de l'annexe 4).
- Il existe une corrélation significative entre les proanthocyanidines et DPPH ( $r = 0,56$  ;  $P < 0,05$ ) (Tbleau I de l'annexe 4).

L'activité antiradicalaire DPPH pourrait être influencée positivement par teneur en caroténoïdes et en proanthocyanidines.

### III.6. Analyses en composantes principales

Une analyse multivariée, analyse en composantes principales (ACP) est effectué sur les résultats afin de mieux visualiser les corrélations entre les paramètres.

D'après le graphe du point factoriel, les paramètres suivants: protéine, CPT, flavonoïde, test FRAP et ABTS forment un seul groupe très lié et aussi un autre groupe est formé a partir de ces paramètres : pouvoir réducteur, couleur, caroténoïde ainsi les proanthocyanidines (Annexe 05). En effet, la matrice de corrélation confirme aussi des corrélations hautement significatives qui existent entre ces variables (Annexe 04).

*Conclusion*

## Conclusion

Les résultats de notre étude nous ont permis de tirer les observations suivantes:

L'analyse pollinique a montré que cinq échantillons du pollen analysé sont monofloraux et deux sont polyfloraux. Les résultats concernant l'analyse des paramètres physico-chimiques indiquent que le pollen de Fnaia (P7) représente la meilleure teneur en protéine (1728,69mgEBA/100g) et en taux de brix (6,66%) par contre pour l'humidité le meilleur pourcentage est attribué au pollen de Adakar par 26,14%.

Pour la composition en substances antioxydantes, la quantité la plus importante en composés phénoliques est constaté pour les pollen de P3(1185,89mgEAG/100g)suivi par celle de P7 (1155,75 mgEAG/100g), alors que en flavonoïdes, caroténoïdes et Proanthocyanidines, c'est le pollen de Chemini qui présente la meilleure teneur 426,74 ; 85,17et 1331,90 mgECAT/100g respectivement.

Tous les pollens analysés exercent des activités antioxydantes, mais le pollen de chemini représente la meilleure activité antiradicalaire (DPPH et ABTS) par 73,06%, 94,50% et aussi le meilleur pouvoir réducteur par 4261,28mgEAG/100g ainsi test FRAP par 5528,40mgEAG/100g.

D'après ces résultats le pollen de chemini (P1) enregistre la meilleur teneur en antioxydants et une forte activité antioxydante.

Pour la matrice de corrélation les résultats ont révélés la présence de plusieurs corrélations entre divers paramètres, les plus importantes sont entre les antioxydants et les activités antioxydantes. Des corrélations significatives sont constatées entre les composés phénoliques et le DPPH ( $r = 0,46$ ), ainsi avec test FRAP ( $r = 0,60$ ), suivi par une corrélation très hautement significative entre les teneurs en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire DPPH et ABTS ainsi que test FRAP, respectivement( $r = 0,67$  ;  $r = 0,77$  ;  $r = 0,77$  ;  $r = 0,90$ ).

Les résultats obtenus confirme également que le pollen est une très bonne source en substances antioxydantes, et donc très bénéfique à la santé humaine.

L'ensemble des travaux réalisés nous a permis de dégager les perspectives suivantes dans le but d'approfondir cette étude:

- Tester d'autres activités biologiques, telles que l'activité antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire...
- Effectuer des analyses, *in vivo*, pour détecter les effets thérapeutiques et toxiques
- Créer une banque de données numérisées et photographiées des pollens d'Algérie à travers la confection des lames de référence.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

## A

**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.

**Al L. M., Dezmirean D., Adela M., Otilia B., Laura L et Bogdanov S.** (2009). Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*. 112, p 863-867.

**Aleksandar Z., Kosti C., Miroljub B., Bara C., Sladjana P., Stanojevi C., Du-sanka M., Milojkovi-c-Opsenica., Zivoslav Lj Te-si c., Branko-Sikoparija., Predrag R., Marija P., Mirjana B et Pe-si-c.** (2015). Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *Food Sci. Technol.* 62, p 301-309.

**Almeida-Muradia LB., Lucila C., Pamplona et Silvia C.** (2005). Chimi-cal composition and botanical evaluation of dried bee pollen. *J. Food Compos. Anal.* 18, p 105-110.

**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 Bioanal Chem.* 389, p 1909-1917.

**Apimondia** - standing commission of apitherapy (2001) *Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [cédérom]* v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN : 2-9600270-0-0.

## B

**Balasundram N., Sundram K et Samman S.** (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99, p 191-203.

**Bentabet N, Boucherit-Otmani Z et Boucherit K.** (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*. 10, p 1007.

**Bath, P.K. et Singh, N.** (1999). A comparison between *Helianthusannuus* & *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*. 67, p 389–397.

**Bellanger C.** (2009). Charentes mesure les pollens dans l'air d'Angoulême. *Atemo Poito-Charentes Nature, Dossier de press* . p 1-10.

**Beretta G., Granata, P., Ferrero M. Orioli, M. et Facino R.M.** (2005). Standardization of antioxydant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analyticachimica*. 533, p185-191.

**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, p 24-29.

**Bogdanov S., Cherbulliez T et Stanauir S.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *SPETRA Biologie*. 157, p 23- 26.

**Boukraa L.** (2008) . Addictive action of royal jelly and honey against *Staphylococcus aureus*. *J Med Food*.

**Bradford M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-Dye Binding *Anal. Biochem.* 72, p 248-252.

### C

**Campos M.G.R., Bogdanov S., Almeida-Muradian L. B., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C et Ferreira F.** (2008). Pollen composition and standardisation of analytical methods. *J.Apicultural Research and Bee World.*47, p 156-163.

**Carpes S. T, Begnini R, Mtias de Alencar S et Lucia Massan M,** (2007). Study of preparation of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciênc Agrotec Lavras.* 31, p 1816-1825.

**Chira K, Suh J-H , Saucier C et Teissédre P-L.** (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie.*6, p75-82.

**Cousin L.** (2014). L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de POITIERS Faculté de Médecine et de Pharmacie. 77, p 21-39.

### D

**Damir A., Drago Š., Midhat J., Hatidža P., Đurđica A.**(2014). Antioxidant properties of pollen. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku.* 3, p 6-12

**Derbel, S et Ghedira, K.** (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie.* 1, p 28-34.

**Dibos CH.** (2011). Interactions plante – pollinisateur caractérisation de la qualité du pollen de deux cucurbitacées durant son ontogenèse, sa présentation et son transport sur le corps de l'abeille domestique. Thèse de doctorat en science agronomique. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, p 28-31.

**Donadieu Y.** (1983). Le pollen : thérapeutique naturelle. Edition Maloine S.A ; 6ème édition, Paris : p 84-97.

**Durcreux G.** (2002). Construction et organisation fonctionnelle de l'appareil reproductrice. *In Introduction à la botanique.* Belin-sup, Paris, p 178-244.

**Dutta D, Chaudhuri U R et Chakraborty R.** (2005). Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *Afr. J. Biotechnol.* 4 (13), p 1510-1520.

### E

**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.

**El-Sayed S. A-H. (2009).** Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food Chemistry*. 114, p 1271-1277.

#### F

**Favier A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p 108-115.

**Feás X., Pilar V-T. M., Estevinho L., Julio A. S. and Antonio I. (2012).** Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. *Molecules*. 17, p 8359-8377.

#### J

**Jean-prost P et Medori P. (2005).** Matière première. In Apiculture. Lavoisier : Yves leconte. Paris, p 161-183.

#### H

**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.

**Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C et Chapelle J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. 62 , p 628-638.

**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.

**Havsteen B.H (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*. 96, p 67-202.

#### G

**Gouranton-Lagier M., Cheynel A., Navarro R et Sulmont G. (2008).** Le pollen : sa vie, son œuvre. *Revue française d'allergologie*. 49, p 96-106.

**Gü lçin 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.

#### K

**Koula D., Souhila T., Asma D et Zahira H. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie- Environnement* (10), ISSN, p 1112-5888.

#### L

**Laaidi k., Laaidi M. et Besancenot J.P. (1997).** Pollen, pollinose et météorologie. *La Météorologie*. 20, p 41-56.

**Laguerre M., Lopez-Giraldo L J., Lecomte J., Pina M et Villeneuve P.** (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *OCL*. 14(5), p 278-92.

**LeBlanc B.W., Davis O.K., Boue S., Delucca A et Deeby T.** (2009). Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*. 115, p 1299-1305.

**Leja M, Mareczek A, Wy-zgolik G, Klepaczl-Baniak J et Czekon'ska K.** (2007). Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chem*. 100, p 237- 240.

**Lien Ai Pham-Huy , Hua He , Chuong Pham-Huy.** (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Biomedical science*. 2, p 89-96.

**Liviu A, Ma rghitas, Oltica G, Stanciu, Daniel S, Dezmirean, Otilia Bobis, Olimpia Popescu, Bogdanov S et Campos MG.** (2009). In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chem*. 115, p 878-883.

**Louveax J, Maerizio A et Vorwochl G.** (1978). Methode of melisspalynology. *Bee world*. 59, p 139-157.

## M

**Maksimovic Z, Malencic D et Kovacevic N.** (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technol*. 96, p 873- 877.

**Marcelo A., Morgono., Raquel F., Milani., Marcia CT Martins., Delia B et Rodriguew-Amaya.** (2011). Determination of water content in Brazilian honeybee-collected pollen by karl fischer titration. *Food Control*. 22, p 1604-1608.

**Marghitas L,A, Stanclu O,G, Dezmirean D,S, Bobis O, Popesar O, Bogdanov S et Campos M,G** (2009). In vitro antioxidant of honey bee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chemistry*. 115, p 878- 883.

**Marouf A. et Reynaud J.** (2007). *La botanique*, DUNOD, Paris, p 238-239.

**Massaux C.** ( 2012 ). Polyphénols des alliés pour la santé. *abeilles & cie*, 149 p 1-4.

**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.

**Messaïd H.** (2008). Optimisation du processus d'immersion-réhydratation système datte séché-jus d'orange. Thèse de magistère en biologie, Université M'hamed Bouguera de Boumerde, Faculté des sciences, p 109.

## N

**Naithani V., Nair S. et Kakkar P.** (2006). Decline in antioxidant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*. 39, p 176-181.

**Narayana R. K., Reddy S. M., Chaluvadi M.R., Krishna D.R.** (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*. 33, p 2-16.

## O



**Ouchemoukh S, Louaileche H et Schweitzer P.** (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys . *Food Control* .18, 52–58.

### P

**Percie de sert P.** (2009). Les pollens apicoles. *Phytothérapie*.7, p75-82.

**Philippe J. M.** (1999). guide de l'apiculteur, Troisième Edition EDISUD, p 1087.

**Pietta, P.G.** (2000). Flavonoids as Antioxi-dant. *Journal of Natural Products*.63, p 1035-1042.

**Pincemail J et Defraigne J.O.** (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités.*Rev Med Liège*. 6, p 10-19.

**Prieu CH.**(2016).Évolution et développement des grains de pollen chez les angiospermes. These de doctorat en biologie. Université paris-saclay, p 12-31.

### R

**Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M et Rice-Evans C.** (1999). Antioxi-dant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Med.* 26, p 1231-1237.

**Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P et Ribéreau-Gayon P.** (1982).Composés phénolique. In « Trait d'œnologie, sciences et technique du vin ». Edition Dunob, p 477- 499.

**Rice-Evans C.** (1999). Screening of phenolics and flavonoids for antioxi-dant activity. In Antioxi-dants food supplements in human health. Edition Academic Press, p 239-253.

### S

**Sass-kiss A., kiss J., Mitotay P., Kerek M. M. et Toth-Markus M.** (2005). Differences in antocyanin and caroténoïd content of fruits and vegetables. *Food Research international*.38, p 1023-1029.

### T

**Tossoua G.M., Chabia L.F., Akoègninoua A., Balloucheb A et Akpagana K.** (2016). Pollen analysis of the atmosphere on the Abomey-Calavi university campus in Benin.*Revue française d'allergologie*. 56, p 65–75.

**Tu J Q., Zhang Z Y., Cui C X., Yang M., Li Y et Zhang Y P.** (2017). Fast Separation and Determination of Flavonoids in Honey Samples by Capillary Zone Electrophoresis. *Kem. Ind.* 66, p 129–134.

### V

**Van campo-duplan M.** (2014). Considérations générales sur les caractères des pollens et des spores et sur leur diagnose. *REVUE DE PALYNOLOGIE* 250-281.

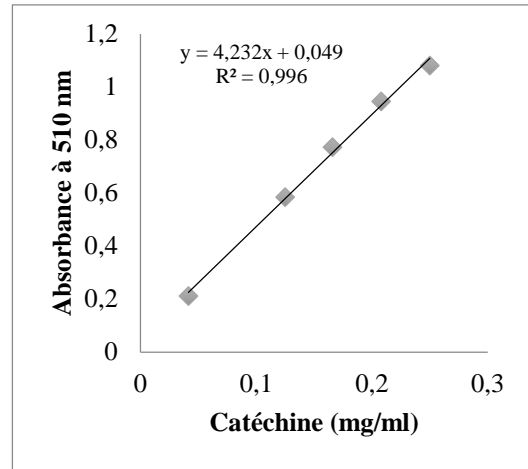
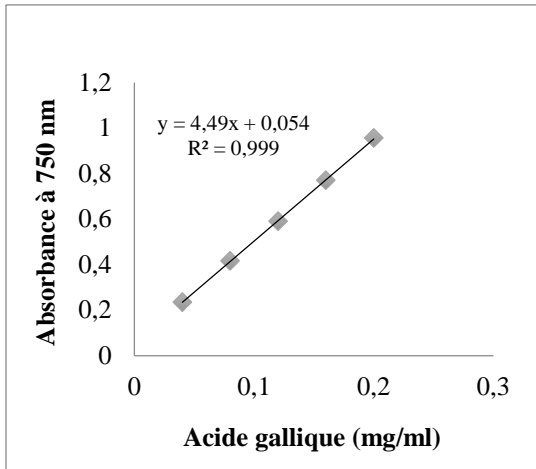
### Y

**Yang K., Wu D., Ye., Liu D., Chen J et Sun P.** (2013). Characterisation of chemical composition of bee pollen in china. *J. Agric. Food Chem.* 61, p 708-718.

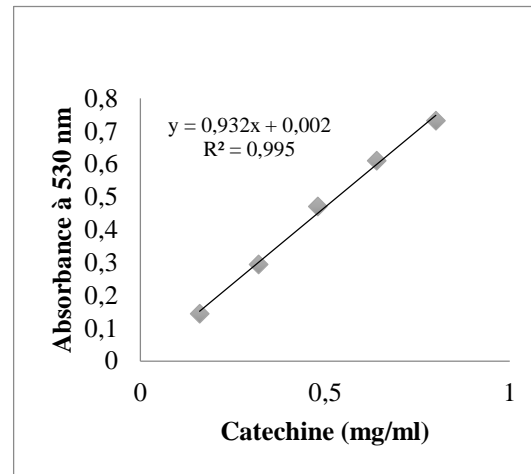
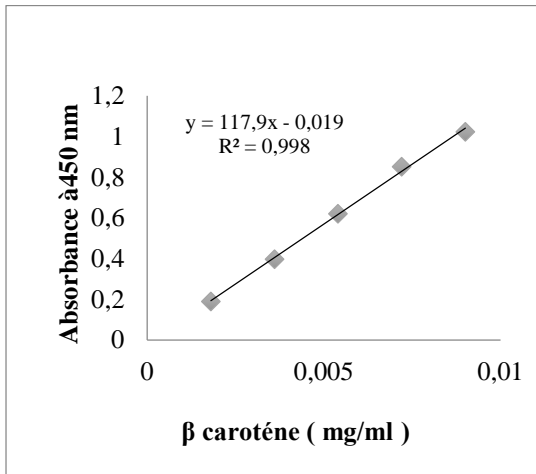
**Ybert J P., Cerceaur M.Th., Hideux M., Lachkar G., Masure E., Renaultmiskowsky., Roland J et Taugourdeau L. (1967).** Application du microscope électrique à balayage (m.e.b.) à la paléontologie et à la sédimentologie. Université Pierre-et-Marie-Curie (Paris VI). 63, p 232

# *Annexes*

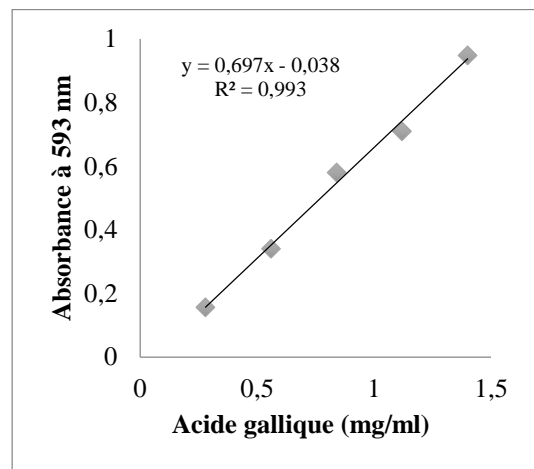
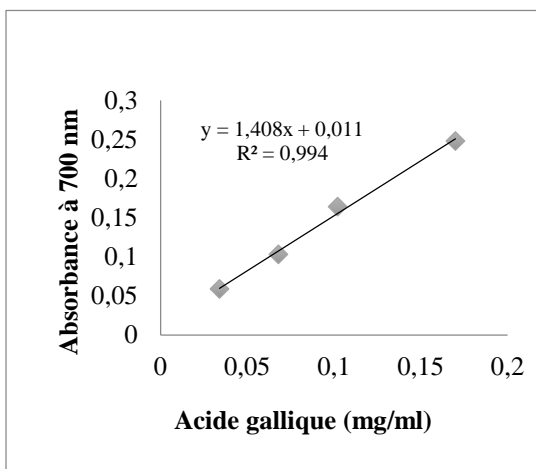
**Annexe 01** : Les courbes d'étalonnages



**Figure 1** : Courbe d'étalonnage des phénols totaux **Figure 2** : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes



**Figure 03**: Courbe d'étalonnage des caroténoïdes **Figure 04**: Courbe d'étalonnage des proanthocyanidines



**Figure 05**: Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur **Figure 06**: Courbe d'étalonnage de test FRAP

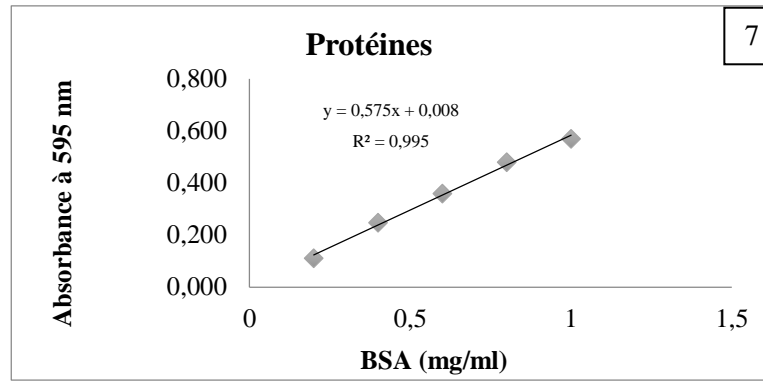


Figure 07 : Courbe d'étalonnage des protéines

**Annexe 02:** les différentes concentrations de tous les échantillons

1 Echantillon	2 Brix (%)	3 Humidité (%)	4 Couleur	5 Protéine mgBSA/100g)	6 CPT (mgEAG/100)	7 Flavonoïdes (mgECAT/100g)	8 Caroténoïde (mgECRT/100g)	9 Proanthocyanidines (mgECAT/100g)	10 DPPH (% scavenging)	11 ABTS (% de réduction)	12 FRAP (mgEAG/100g)	13 pouvoir réducteur (mgEAG/100g)
P1	6	23,11	0,977	827,826	1063,251	377,126	81,458	1276,824	72,294	97,644	4140,64116	5558,23864
P1	6,2	23,36	0,926	1412,173	1078,841	449,905	85,496	1381,974	73,448	88,008	4256,46329	5309,65909
P1	6,3	22,165	0,94	1387,826	1141,202	453,213	88,583	1336,909	73,448	97,858	4386,76319	5717,32955
P2	5,9	24,445	0,471	925,217	1016,481	244,801	28,854	991,416	60,75	64,025	2765,25336	4245,73864
P2	5,9	28,225	0,455	1193,043	985,3	241,493	32,298	1021,459	64,213	65,524	2663,909	3947,44318
P2	5,8	25,77	0,465	754,782	1013,363	304,347	35,979	946,351	59,595	66,167	2533,6091	4076,70455
P3	5,7	22,5	0,261	0	1194,209	248,109	18,405	645,922	54,256	71,734	2721,82006	4593,75
P3	5,6	22,48	0,246	340,869	1216,035	344,045	17,692	766,094	57,287	72,162	3185,10858	4762,78409
P3	5,8	22,2	0,255	340,869	1147,438	350,661	19,711	781,115	57,72	72,591	3054,80869	4812,5
P4	6,8	24,725	0,151	1046,956	1103,786	287,807	12,468	630,901	47,041	68,95	2316,44261	4026,98864
P4	6,8	23,865	0,146	852,173	960,356	287,807	10,449	675,965	47,186	74,518	2200,62048	4116,47727
P4	6,7	23,96	0,15	1168,695	913,585	281,19	13,893	736,051	47,186	73,233	2301,96484	4444,60227
P5	5,6	22,67	0,378	1241,739	947,884	162,098	57,116	1051,502	45,165	59,743	1635,98759	3917,61364
P5	5,8	21,73	0,379	998,26	1000,89	172,022	67,09	1051,502	47,763	59,957	1505,68769	3758,52273
P5	5,7	23,365	0,384	754,782	1038,307	175,33	69,821	1141,63	45,021	59,528	1621,50982	3987,21591
P6	5,2	22,86	0,124	754,782	926,057	181,947	15,318	916,309	45,887	74,946	1954,49845	4613,63636
P6	5,3	21,16	0,132	219,13	916,703	175,33	14,486	961,373	46,32	73,019	2099,27611	5389,20455
P6	5,6	21,11	0,13	-97,391	879,287	175,33	17,217	1036,48	47,33	75,588	1520,16546	4762,78409
P7	6,6	23,265	0,224	1582,608	1147,438	383,742	26,242	736,051	58,441	82,655	2924,50879	4603,69318
P7	6,7	22,265	0,233	1485,217	1125,612	307,655	24,461	781,115	58,441	86,081	2866,59772	4792,61364
P7	6,7	23,525	0,23	2118,26	1194,209	410,207	26,836	796,137	54,978	85,867	2996,89762	4812,5

**Annexe 03 :** Test ANOVA

Cellule N°	Test LSD ; variable Brix (%) (TABBB.sta) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,01381, dl = 14,000					Cellule N°	Test LSD ; variable Humidité (%) (TABBB.sta) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,91922, dl = 14,000					
	Echantion	Brix (%) Moyenne	c	a	d		b	Echantion	Humidité (%) Moyenne	c	b	a
6	P6	5,366667			****		6	P6	21,71000	****		
3	P3	5,700000	****				3	P3	22,39333	****		
5	P5	5,700000	****				5	P5	22,58833	****	****	
2	P2	5,866667	****				1	P1	22,87833	****	****	
1	P1	6,166667				****	7	P7	23,01833	****	****	
7	P7	6,666667		****			4	P4	24,18333		****	
4	P4	6,766667		****			2	P2	26,14667			****

*Annexes*

Test LSD ; variable Couleur (Tableu resu. sta) Groupes Homogènes, alpha = ,10000 Erreur : MC Inter = ,00012, dl = 14,000									
Cellule N°	Echantion	Couleur Moyenne	g	f	e	d	c	b	a
6	P6	0,128667	****						
4	P4	0,149000		****					
7	P7	0,229000			****				
3	P3	0,254000				****			
5	P5	0,380333					****		
2	P2	0,463667						****	
1	P1	0,947667							****

Test LSD ; variable Protéine (mgEBSA/100g) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 83333,, dl = 14,000					
Cellule N°	Echantion	Protéine mgEBSA/100g) Moyenne	b	c	a
3	P3	227,246		****	
6	P6	292,174		****	
2	P2	957,681	****		
5	P5	998,261	****		
4	P4	1022,609	****		
1	P1	1209,275	****		
7	P7	1728,696			****

Test LSD ; variable CPT (mgEAG/100g) (Tableu Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 2421,7, dl = 14,000						
Cellule N°	Echantion	CPT mgEAG/100g) Moyenne	c	d	b	a
6	P6	907,350		****		
4	P4	992,576	****	****		
5	P5	995,694	****			
2	P2	1005,048	****			
1	P1	1094,432			****	
7	P7	1155,754			****	****
3	P3	1185,895				****

Test LSD ; variable Flavonoïdes (mgECAT/100g) (T Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 1329,4, dl = 14,000						
Cellule N°	Echantion	Flavonoïdes (mgECAT/100g) Moyenne	c	d	b	a
5	P5	169,8173		****		
6	P6	177,5362		****		
2	P2	263,5476	****			
4	P4	285,6018	****			
3	P3	314,2722	****		****	
7	P7	367,2023			****	****
1	P1	426,7486				****

Test LSD ; variable caroténoïdes (mgEβCAR/100g) (Tableu re Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 11,103, dl = 14,000								
Cellule N°	Echantion	caroténoïdes ( ngE βCAR/100g) Moyenne	f	e	d	c	b	a
4	P4	12,27029	****					
6	P6	15,67430	****	****				
3	P3	18,60334		****				
7	P7	25,84676			****			
2	P2	32,37772				****		
5	P5	64,67628					****	
1	P1	85,17953						****

Test LSD ; variable Proanthocyanidines (mgECAT/100g) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 2836,7, dl = 14,000						
Cellule N°	Echantion	Proanthocyanidines (mgECAT/100g) Moyenne	d	c	b	a
4	P4	680,973	****			
3	P3	731,044	****			
7	P7	771,102	****			
6	P6	971,388		****		
2	P2	986,409		****		
5	P5	1081,545			****	
1	P1	1331,903				****

Test LSD ; variable DPPH (% de scavenging) (T Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 2,3877, dl = 14,000						
Cellule N°	Echantion	DPPH (% de scavenging) Moyenne	d	c	b	a
5	P5	45,98365	****			
6	P6	46,51275	****			
4	P4	47,13805	****			
3	P3	56,42136		****		
7	P7	57,28716		****		
2	P2	61,51996			****	
1	P1	73,06397				****

Test LSD ; variable ABTS (% de réduction) (Tableu Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 6,7229, dl = 14,000							
Cellule N°	Echantion	ABTS (% de réduction) Moyenne	c	e	d	b	a
5	P5	59,74304		****			
2	P2	65,23911			****		
3	P3	72,16274	****				
4	P4	72,23412	****				
6	P6	74,51820	****				
7	P7	84,86795				****	
1	P1	94,50393					****

Test LSD ; variable FRAP (mgEAG/100g) (Tableau res Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 27129,, dl = 14,000						Test LSD ; variable Pouvoir réducteur (mgEAG/100g) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 46067,, dl = 14,000							
Cellule N°	Echantion	FRAP (mgEAG/100g) Moyenne	e	c	b	d	a	Cellule N°	Echantion	Pouvoir réducteur (mgEAG/100g) Moyenne	c	b	a
5	P5	1587,728	****					5	P5	3887,784	****		
6	P6	1857,980	****					2	P2	4089,962	****		
4	P4	2273,009				****		4	P4	4196,023	****		
2	P2	2654,257		****				3	P3	4723,011		****	
7	P7	2929,335		****	****			7	P7	4736,269		****	
3	P3	2987,246			****			6	P6	4921,875		****	
1	P1	4261,289				****		1	P1	5528,409			****

**Annexe 04 : Matrice de corrélation**

**Tableau I : Matrice de corrélation ( P<0,05 )**

Variable	Corrélations (Tableau.sta) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=21 (Observations à VM ignorées)											
	Brix (%)	Humidité (%)	Couleur	Protéine (mgBSA/100g)	CPT (mgEAG/100)	Flavonoïdes (mgECAT/100g)	Caroténoïde (mgECRT/100g)	Proanthocyanidines (mgECAT/100g)	DPPH (% scavenging)	ABTS (% de réduction)	FRAP (mgEAG/100g)	pouvoir réducteur (mgEAG/100g)
Brix (%)	1,00	0,25	0,01	0,65	0,31	0,56	-0,07	-0,32	0,17	0,39	0,30	-0,01
Humidité (%)	0,25	1,00	0,12	0,32	-0,05	0,09	-0,07	-0,07	0,22	-0,24	0,07	-0,46
Couleur	0,01	0,12	1,00	0,26	0,20	0,52	0,88	0,82	0,84	0,49	0,73	0,45
Protéine (mgBSA/100g)	0,65	0,32	0,26	1,00	0,24	0,48	0,31	0,12	0,29	0,32	0,31	-0,02
CPT (mgEAG/100)	0,31	-0,05	0,20	0,24	1,00	0,67	0,10	-0,20	0,46	0,37	0,60	0,27
Flavonoïdes (mgECAT/100g)	0,56	0,09	0,52	0,48	0,67	1,00	0,29	0,13	0,77	0,77	0,90	0,58
Caroténoïde (mgECRT/100g)	-0,07	-0,07	0,88	0,31	0,10	0,29	1,00	0,87	0,55	0,29	0,43	0,26
Proanthocyanidines (mgECAT/100g)	-0,32	-0,07	0,82	0,12	-0,20	0,13	0,87	1,00	0,52	0,28	0,35	0,38
DPPH (% scavenging)	0,17	0,22	0,84	0,29	0,46	0,77	0,55	0,52	1,00	0,66	0,92	0,57
ABTS (% de réduction)	0,39	-0,24	0,49	0,32	0,37	0,77	0,29	0,28	0,66	1,00	0,79	0,86
FRAP (mgEAG/100g)	0,30	0,07	0,73	0,31	0,60	0,90	0,43	0,35	0,92	0,79	1,00	0,72
pouvoir réducteur (mgEAG/100g)	-0,01	-0,46	0,45	-0,02	0,27	0,58	0,26	0,38	0,57	0,86	0,72	1,00

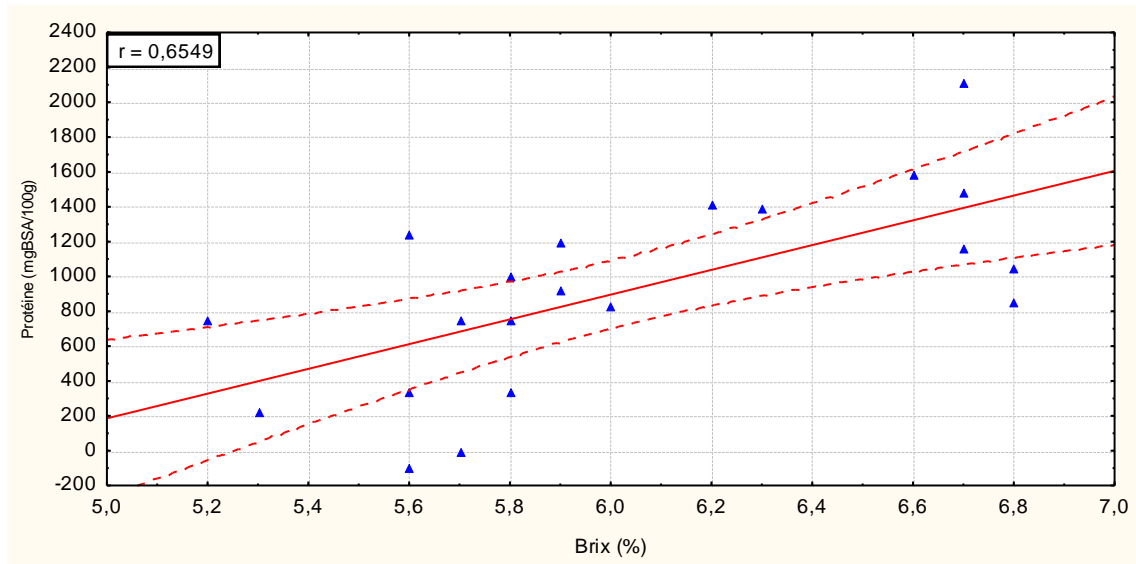
**Tableau II : Matrice de corrélation ( P<0,01)**

Variable	Corrélations (Tableau.sta) Corrélations significatives marquées à p < ,01000 N=21 (Observations à VM ignorées)											
	Brix (%)	Humidité (%)	Couleur	Protéine (mgBSA/100g)	CPT (mgEAG/100)	Flavonoïdes (mgECAT/100g)	Caroténoïde (mgECRT/100g)	Proanthocyanidines (mgECAT/100g)	DPPH (% scavenging)	ABTS (% de réduction)	FRAP (mgEAG/100g)	pouvoir réducteur (mgEAG/100g)
Brix (%)	1,00	0,25	0,01	0,65	0,31	0,56	-0,07	-0,32	0,17	0,39	0,30	-0,01
Humidité (%)	0,25	1,00	0,12	0,32	-0,05	0,09	-0,07	-0,07	0,22	-0,24	0,07	-0,46
Couleur	0,01	0,12	1,00	0,26	0,20	0,52	0,88	0,82	0,84	0,49	0,73	0,45
Protéine (mgBSA/100g)	0,65	0,32	0,26	1,00	0,24	0,48	0,31	0,12	0,29	0,32	0,31	-0,02
CPT (mgEAG/100)	0,31	-0,05	0,20	0,24	1,00	0,67	0,10	-0,20	0,46	0,37	0,60	0,27
Flavonoïdes (mgECAT/100g)	0,56	0,09	0,52	0,48	0,67	1,00	0,29	0,13	0,77	0,77	0,90	0,58
Caroténoïde (mgECRT/100g)	-0,07	-0,07	0,88	0,31	0,10	0,29	1,00	0,87	0,55	0,29	0,43	0,26
Proanthocyanidines (mgECAT/100g)	-0,32	-0,07	0,82	0,12	-0,20	0,13	0,87	1,00	0,52	0,28	0,35	0,38
DPPH (% scavenging)	0,17	0,22	0,84	0,29	0,46	0,77	0,55	0,52	1,00	0,66	0,92	0,57
ABTS (% de réduction)	0,39	-0,24	0,49	0,32	0,37	0,77	0,29	0,28	0,66	1,00	0,79	0,86
FRAP (mgEAG/100g)	0,30	0,07	0,73	0,31	0,60	0,90	0,43	0,35	0,92	0,79	1,00	0,72
pouvoir réducteur (mgEAG/100g)	-0,01	-0,46	0,45	-0,02	0,27	0,58	0,26	0,38	0,57	0,86	0,72	1,00

**Tableau III : Matrice de corrélation ( P<0,001 )**

Variable	Corrélations (Tableu.sta) Corrélations significatives marquées à p < ,00100 N=21 (Observations à VM ignorées)											
	Brix (%)	Humidité (%)	Couleur	Protéine mgBSA/100g)	CPT (mgEAG/100)	Flavonoïdes mgECAT/100g)	Caroténoïde mgECRT/100g)	Proanthocyanidines (mgECAT/100g)	DPPH (% scavenging)	ABTS (% de réduction)	FRAP mgEAG/100g)	pouvoir réducteur mgEAG/100g)
<b>Brix (%)</b>	1,00	0,25	0,01	0,65	0,31	0,56	-0,07	-0,32	0,17	0,39	0,30	-0,01
Humidité (%)	0,25	1,00	0,12	0,32	-0,05	0,09	-0,07	-0,07	0,22	-0,24	0,07	-0,46
Couleur	0,01	0,12	1,00	0,26	0,20	0,52	<b>0,88</b>	<b>0,82</b>	<b>0,84</b>	0,49	<b>0,73</b>	0,45
Protéine (mgBSA/100g)	0,65	0,32	0,26	1,00	0,24	0,48	0,31	0,12	0,29	0,32	0,31	-0,02
CPT (mgEAG/100)	0,31	-0,05	0,20	0,24	1,00	<b>0,67</b>	0,10	-0,20	0,46	0,37	0,60	0,27
Flavonoïdes (mgECAT/100g)	0,56	0,09	0,52	0,48	<b>0,67</b>	1,00	0,29	0,13	<b>0,77</b>	<b>0,77</b>	<b>0,90</b>	0,58
Caroténoïde (mgECRT/100g)	-0,07	-0,07	<b>0,88</b>	0,31	0,10	0,29	1,00	<b>0,87</b>	0,55	0,29	0,43	0,26
Proanthocyanidines (mgECAT/100g)	-0,32	-0,07	<b>0,82</b>	0,12	-0,20	0,13	<b>0,87</b>	1,00	0,52	0,28	0,35	0,38
DPPH (% scavenging)	0,17	0,22	<b>0,84</b>	0,29	0,46	<b>0,77</b>	0,55	0,52	1,00	0,66	<b>0,92</b>	0,57
ABTS (% de réduction)	0,39	-0,24	0,49	0,32	0,37	<b>0,77</b>	0,29	0,28	0,66	1,00	<b>0,79</b>	<b>0,86</b>
FRAP (mgEAG/100g)	0,30	0,07	<b>0,73</b>	0,31	0,60	<b>0,90</b>	0,43	0,35	<b>0,92</b>	<b>0,79</b>	1,00	<b>0,72</b>
pouvoir réducteur (mgEAG/100g)	-0,01	-0,46	0,45	-0,02	0,27	0,58	0,26	0,38	0,57	<b>0,86</b>	<b>0,72</b>	1,00

**Corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les antioxydants**



**Figure 01: Corrélation entre protéines et le brix.**



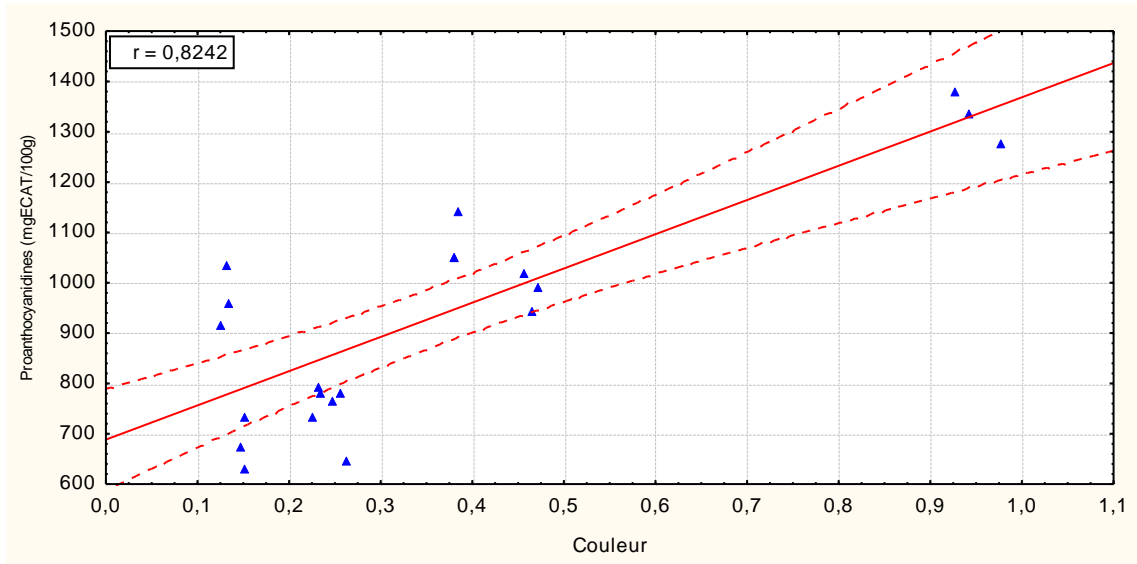


Figure 02 : Corrélation entre proanthocyanidines et la couleur.

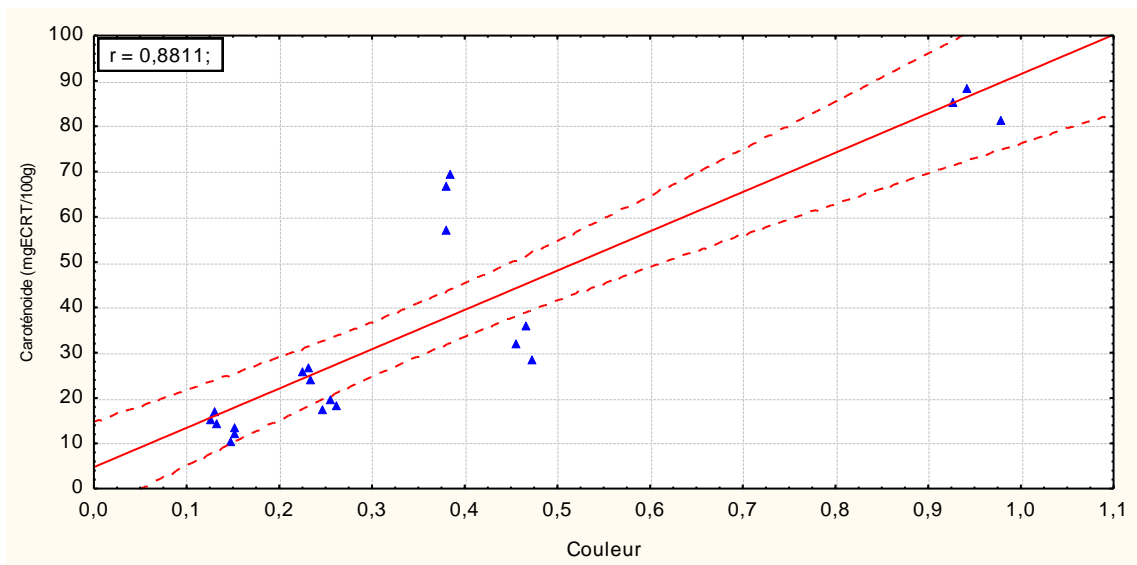


Figure 03 : Corrélation entre les caroténoïdes et la couleur.

### Corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les activités antioxydantes

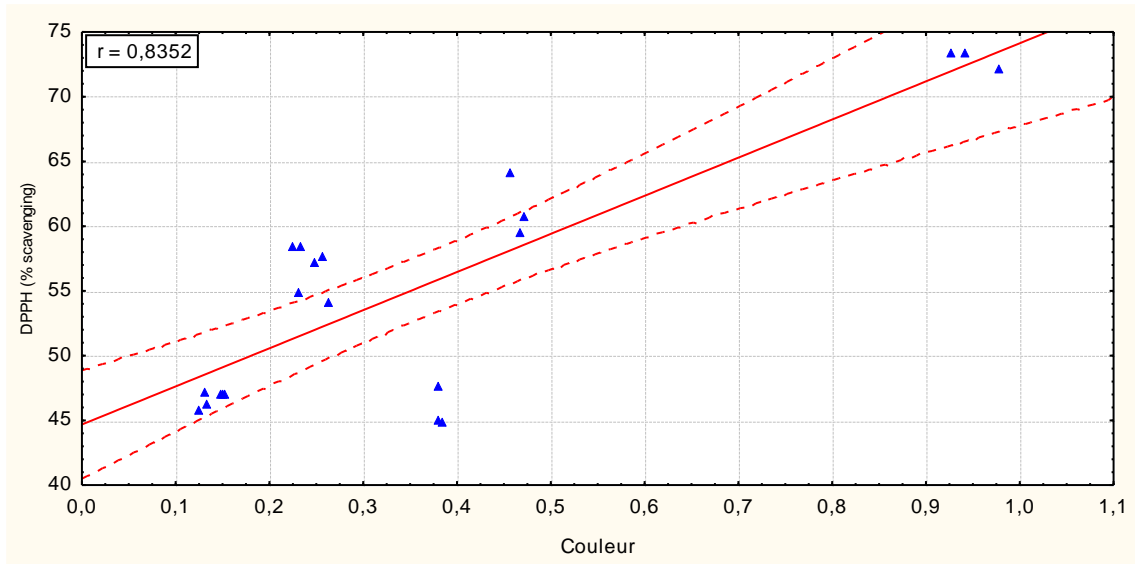


Figure 01 : Corrélacion entre DPPH et la couleur.

### Corrélacion entre les antioxydants et les activités antioxydantes

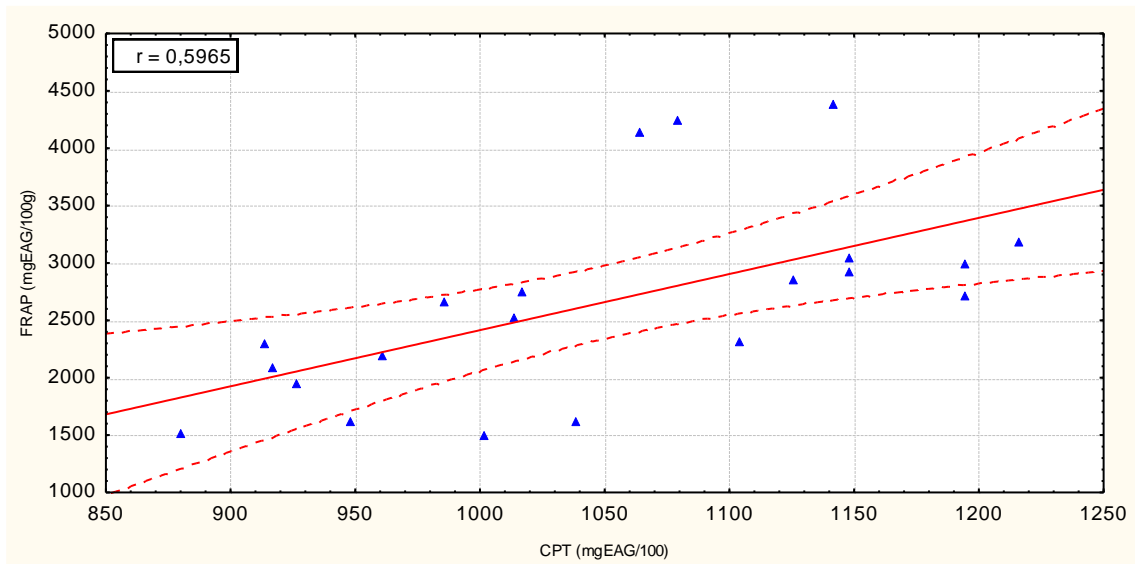


Figure 01 : Corrélacion entre le FRAP et les CPT.

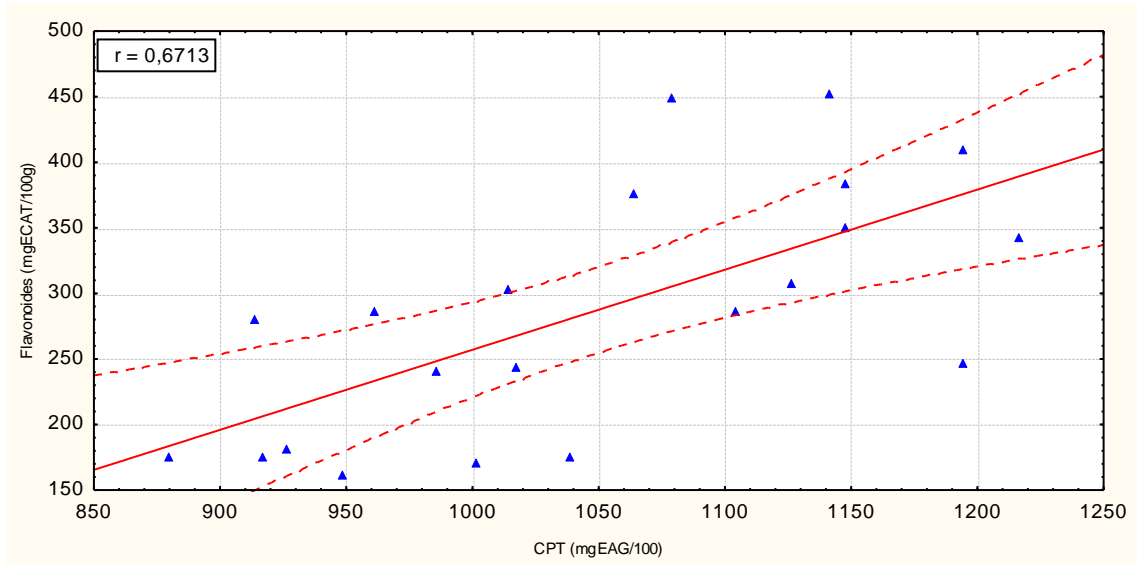


Figure 02 : Corrélation entre flavonoides et les CPT.

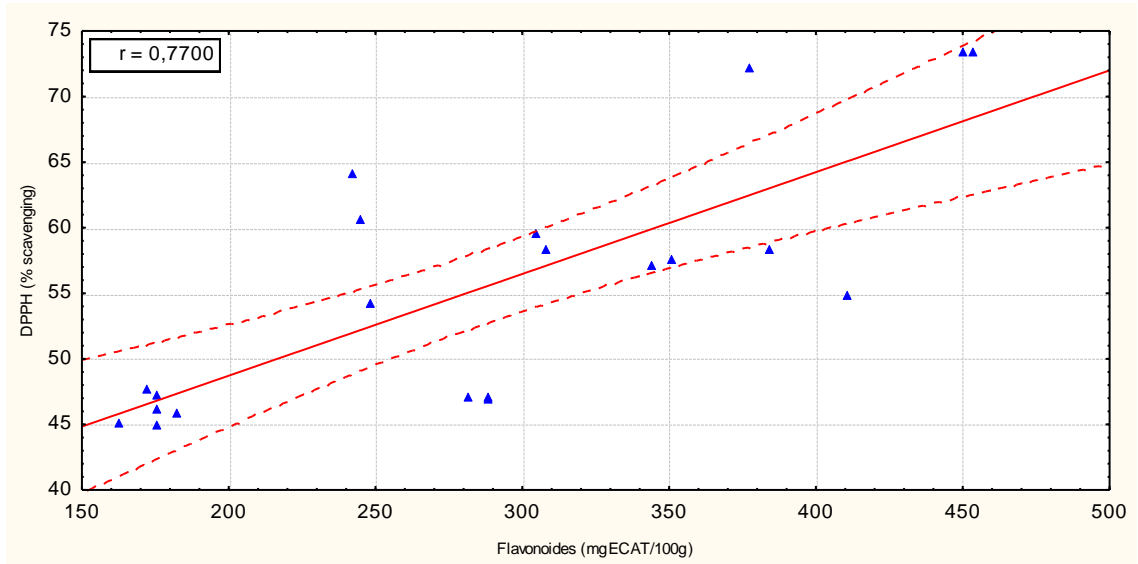


Figure 03 : Corrélation entre DPPH et les flavonoides.

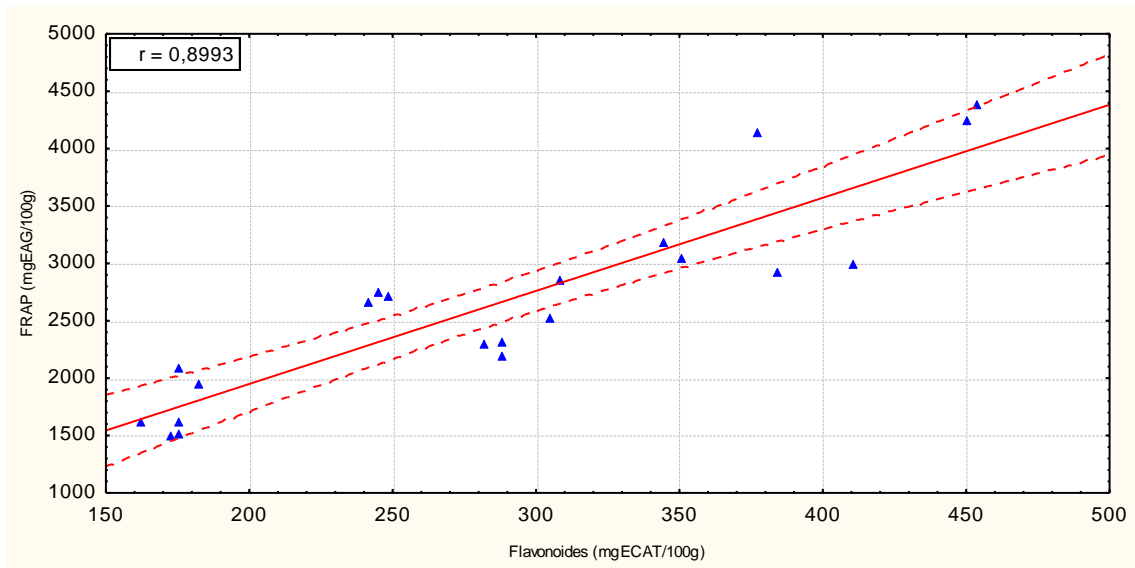


Figure 04 : Corrélation entre FRAP et les flavonoides

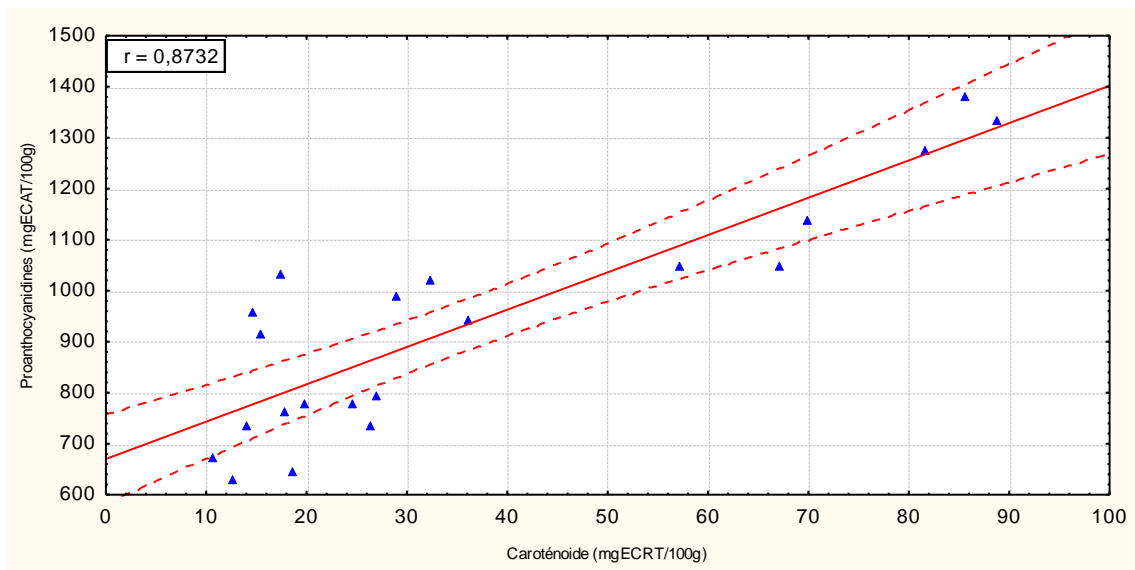


Figure 05 : Corrélation entre proanthocyanidines et les caroténoïdes.

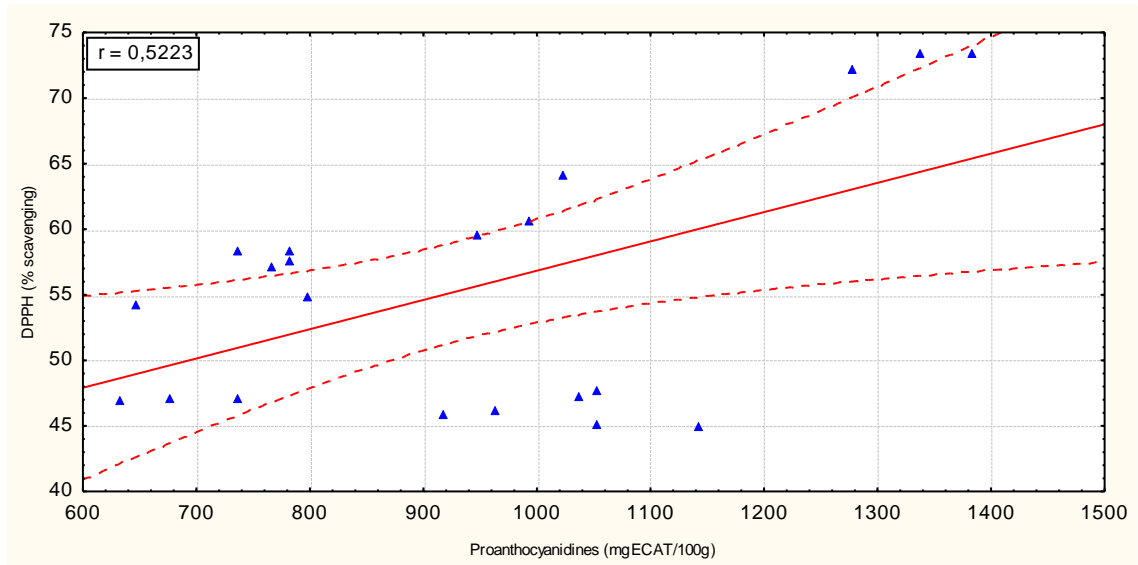
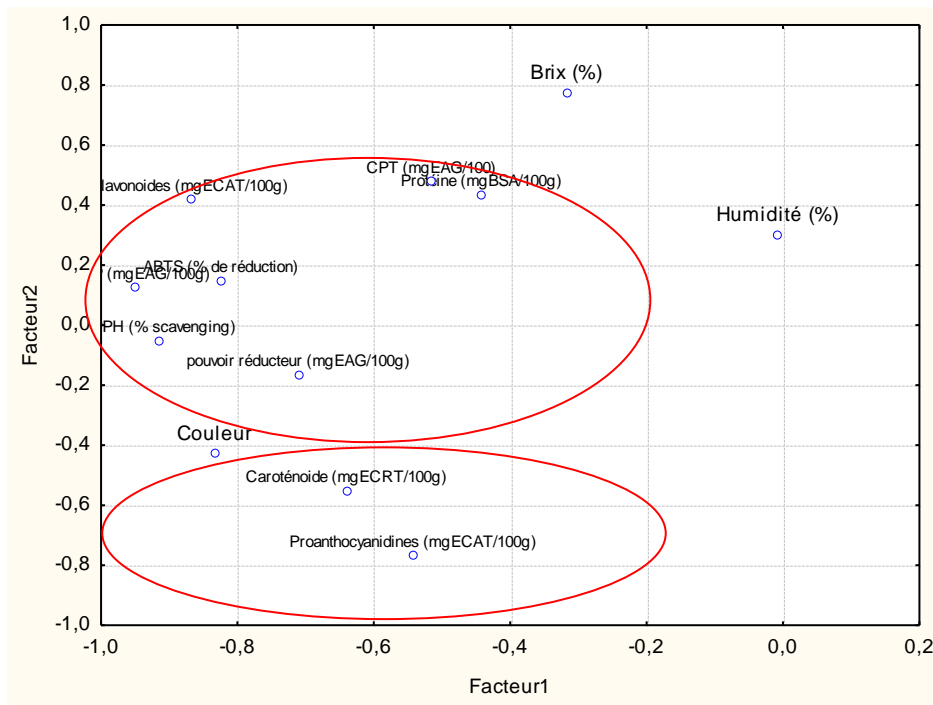


Figure 06 : Corrélation entre DPPH et les poanthocyanidine

### Annexe 05 : ACP



## Résumé

Cette étude porte sur la détermination des propriétés physico-chimiques de 7 pollens, de leurs taux en antioxydants et de leurs activités antioxydantes, les résultats révèlent les teneurs en protéines variant de  $227,24 \pm 196,80$  à  $1728,69 \pm 340,86$  mgEBSA/100g, ceux des taux en antioxydants confirment la présence des antioxydants tels polyphénols à des concentrations ( $907,34 \pm 24,74$  à  $1185,89 \pm 35,04$  mgEAG/100g), les flavonoïdes ( $169,81 \pm 6,88$  à  $426,74 \pm 43,00$  mgECAT/100g). Pour les activités antioxydantes le pollen P1 exprime les meilleures activités DPPH ( $73,06 \pm 0,66$  %), ABTS ( $94,50 \pm 5,62$  %), pouvoir réducteur ( $5528,40 \pm 205,46$  mgEAG/100g) et test FRAP ( $4261,28 \pm 123,13$  mgEQG/100g). Les résultats sont très hautement corrélés entre les antioxydants et les activités antioxydantes, d'abord entre les polyphénols et test FRAP ( $r = 0,60$ ), ensuite entre les flavonoïdes et l'activité antiradicalaire DPPH et ABTS ainsi que test FRAP respectivement ( $r = 0,67$  ;  $r = 0,77$  ;  $r = 0,77$  ;  $r = 0,90$ ) et hautement corrélés pour les flavonoïdes avec le pouvoir réducteur ( $r = 0,58$ ) donc les pollens riches en polyphénols et en flavonoïdes présentent la plus forte activité antioxydante.

**Mots clés :** Pollen; stress oxydatif; paramètre physico-chimiques; antioxydants; activité antioxydante.

## Abstract

This study deals with the determination of the physicochemical properties of 7 pollens, their antioxidant levels and their antioxidant activities, the results reveal the protein contents ranging from  $227,24 \pm 196,80$  to  $1728,69 \pm 340,86$  mgEBSA / 100g, those of antioxidant levels confirm the presence of antioxidants such polyphenols at concentrations ( $907.34 \pm 24.74$  to  $1185.89 \pm 35.04$  mgEAG / 100g), flavonoids ( $169.81 \pm 6.88$  at  $426.74 \pm 43.00$  mgECAT / 100g). For the antioxidant activities pollen P1 expresses the best activities DPPH ( $73,06 \pm 0,66$  %), ABTS ( $94,50 \pm 5,62$  %), reducing power (  $5528.40 \pm 205.46$  mgEAG / 100g) and FRAP test ( $4261.28 \pm 123.13$  mgEQG / 100g). The results are very highly correlated between antioxidants and antioxidant activities, first between polyphenols and FRAP test ( $r = 0.60$ ), then between the flavonoids and the anti-radical activity DPPH and ABTS as well as respective FRAP test ( $r = 0.67$ ,  $r = 0.77$ ,  $r = 0.77$ ,  $r = 0.80$ ) and highly correlated for flavonoids with reducing power ( $r = 0.58$ ), hence pollens rich in polyphenols and in flavonoids exhibit the strongest antioxidant activity.

**Keywords:** Pollen; oxidative stress; physico-chemical parameter; antioxidants; antioxidant activity.nashat mudad lil'aksadati.