

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaïa



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie physico-chimique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie fondamentale

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation des propriétés biologiques d'extraits
de pollen d'abeilles**

Présenté par :

Ibelhoulene Taalit & Hamadache Nadjet

Soutenu le : 24 Juin 2024

Devant le jury composé de :

Mme Aksas Amal	MCB	Président
M Zaidi Hicham	MCB	Encadrant
Mme Yous Farah	MCB	Examinatrice
M Otmani Amar	MCB	Co-encadrant

Année universitaire : 2023/2024



Remerciements

*Avant, tous remercions ALLAH,
le très miséricordieux, l'unique, le
plus puissant pour sa guidance,
son aide qui a permis de mener à
bien ce travail.*

Nous tenons à remercier chaleureusement, et exprimer notre profonde gratitude à notre encadrant de mémoire de fin d'étude DR ZAIDI Hicham, pour sa simplicité, son soutien et sa guidance tout au long de ce projet de recherche.

Merci d'avoir accepté de nous encadrer.

Nous adressons nos sincères gratitudee à notre cher enseignant DR OTMANI Amar, pour son temps et son expertise précieuse fournis pendant notre travail pratique.

Mme Ben Yahya, nous n'oublierons jamais votre gentillesse, votre aide et vos conseils durant notre stage pratique.

Nous adressons également nos remerciements : aux membres de jury, pour leur présence, leur lecture attentive du présent manuscrit, ainsi que pour leurs remarques qu'ils ont adressées afin d'améliorer notre travail. Nous saisissons cette occasion pour exprimer notre profond respect et notre reconnaissance à l'ensemble du corps enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, plus particulièrement celui du département biologie physico-chimique, pour avoir participé à notre formation graduée.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos parents, nos amis, nos camarades ainsi que tous ceux qui nous ont toujours soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces



Je dédie ce modeste travail à :

La lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie, à **mes chers parents** pour leur soutien 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 fiers de leurs fille et que dieu vous bénisse pour moi.

Mon cher frère et mes sœurs

Walid est ma fierté, l'homme de la maison après mon père.

Rima mon idole, ma deuxième maman et ses petits anges « **Yanis** » et « **Ghiles** » sans oublier leur papa « **Hamza** »

Melissa la meilleure des sœurs qui a été une source de force et de motivation, sans elle je ne l'aurais certainement pas fait ce travail est donc l'aboutissement de son soutien, ses sacrifices et ses prières.

A mes adorables amies : Massycylia, Fatiha, Feryel, Saïda, et
Dassine

A ma chère copine, binôme, sœur Taalit et à toute sa famille

Mon bras droit «B» que dieu réunisse nos chemins et que ce travail soit un témoignage de ma reconnaissance sincère.

Nadjet

Dédicaces



C'est un plaisir que de dédier ce travail à tous ce qui ont occupé une place dans ma vie et à tous ce qui ont participé à ma réussite :

A ma mère qui n'a jamais cessé de formuler les prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mon père pour tous ses sacrifices, encouragements indispensables et ses instructions si précieuses tout au long de mes études.

J'espère un jour être à la hauteur de vos attentes.

Aucun langage ne devait exprimer mon respect et ma considération pour tout votre soutien et l'accompagnement, je parle de **mes grands-parents** que dieu vous garde et vous procure la santé.

A mes adorables sœurs qui ont été là pour moi, elles sont une source de motivation, de tendresse dans tous les moments de stress et **mes frères** la clé de joie et de bonheur, que dieu vous protège et vous donne le meilleur que vous méritez je vous aime.

Sans oublier **notre petit ange Ilyane** qu'Allah te garde pour tes parents.

Ma bînôme, la meilleure des copines Nadjet pour son soutien moral, et sa patience.

A mes meilleures copines chacune a son nom surtout : massicylía, Kamília, Dacine, Fatíha et Saída

Taalít

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des annexes	
Liste des abréviations	
Introduction	12

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I. Synthèse bibliographique.....	2
I.1. Généralités sur le pollen.....	2
I.1.1. Définition du pollen.....	2
I.1.2. Aspect microscopique.....	2
I.1.3. Importance du pollen	3
I.1.4. Abeille	4
I.1.5. Colonie d'abeille.....	5
I.1.5.1. Caste de la colonie	5
I.1.5.2. Description physique	6
I.1.5.3. Habitat de la colonie	6
I.1.6. Pollinisation	6
I.1.7. La récolte du pollen par les abeilles	7
I.1.8. Composition biochimique du pollen d'abeilles	7
I.1.9. Propriétés organoleptiques	10
I.1.10. Activités biologiques	10
I.1.10.1. Activité antioxydants	10
I.1.10.2. Activité antimicrobienne.....	13

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes	14
II.1. Echantillonnage.....	14
II.2. Préparation des extraits éthanoliques du pollen.....	15
II.3. Dosage des protéines.....	15
II.4. Dosage des antioxydants.....	15
II.5. Activités antioxydants.....	16

II.5.1. Activité anti radicalaire DPPH	16
II.5.2. Activité anti radicalaire ABTS	16
II.5.3. Pouvoir réducteur	17
II.5.4. Test de FRAP	18
II.6. Activité antimicrobienne.....	18
I.6.1. Préparation des échantillons de pollen	18
I.6.3. Stérilisation du matériel.....	19
I.6.4. Souches bactériennes utilisées.....	19
I.6.5. Ensemencement	19
II.7 Analyse statistique	19

Chapitre III : Résultats et Discussion

III. Résultats et discussion.....	20
III.1. Dosage des protéines	20
III.2 Dosage des antioxydants	21
III.3. Activité anti oxydants.....	21
II.3.1. Activité anti radicalaire DPPH.....	21
III.3.2. Activité anti radicalaire ABTS.....	22
III.3.3. Pouvoir réducteur.....	23
III.3.4. Test de FRAP	24
III.4. Activité anti microbienne	25
Conclusion et perspectives	26
Références Bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des figures

Figure 1 : Photographie de grain de pollen.	2
Figure 2 : Schéma de composition du grain de pollen	3
Figure 3: Photo d'abeille	4
Figure 4: Les différentes castes chez l'abeille	5
Figure 5: Photographie de morphologie d'abeille.....	6
Figure 6: Rapport de la composition dans le pollen.....	9
Figure 7: classification des antioxydants.	12
Figure 8:Echantillons de pollen analysés.	14
Figure 9:Extraits de chaque échantillon du pollen.	15
Figure 10: Teneurs en protéines des échantillons	20
Figure 11: Teneur en composés phénoliques totaux des échantillons.	21
Figure 12: DPPH*IC ₅₀ des échantillons et de l'acide gallique.	22
Figure 13 : ABTS*IC ₅₀ des échantillons et de l'acide gallique	23
Figure 14 : Pouvoir réducteur (%) des échantillons et de l'acide gallique	23
Figure 15: Test de FRAP (%) des échantillons et de l'acide gallique.....	24
Figure 16: Diamètre zone d'inhibition <i>E. Coli</i> des extraits.....	26
Figure 17: Diamètre zone d'inhibition <i>staphylococcus Aureus</i> des extraits	26

Liste des tableaux

Tableau I : Les propriétés organoleptiques du pollen d'abeilles	10
Tableau II: Les espèces oxygénées réactives et les espèces non radicalaires	11
Tableau III: Régions de récolte des échantillons de pollen.....	14
Tableau IV: Dosage des protéines, teneur en antioxydants, et activité antioxydants des échantillons.....	20
Tableau V: Diamètres de zone d'inhibition obtenus avec les extraits.	25

Liste des annexes

Annexe 01 : Préparation des réactifs et solutions utilisées dans les analyses de pollen

Annexe 02 : Les courbes d'étalonnages

Liste des abréviations

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

Abs : Absorbance

Abs C : Absorbance de contrôle

Abs E : Absorbance d'Echantillon

P : Pollen

CPT : composé phénoliques totaux

DPPH : 2, 2-diphényle -1-picrylhydrasyl

FRAP : ferric reducing antioxydant power

TPTZ : Triptyletriazine

AG : Acide gras

ANOVA : Analyse de la variance

EAG : Equivalent d'acide gallique

BSA : Bovine Sérum Albumine

EBSA : Equivalents Bovine Sérum Albumine

DMSO : Dimethyl sulfoxide

IC₅₀ : La concentration inhibitrice médiane

AA : acide aminé

nm : nanomètre

Introduction

Depuis l'antiquité, l'Homme utilisait les ressources naturelles pour survivre et évoluer dans son environnement. Il s'est investi de plus en plus dans la recherche des produits sains et naturels notamment les produits de la ruche. Au fur et à mesure de leur utilisation ils ont découvert que les produits apicoles ont de multiples vertus médicales.

En plus, à des études sur les miels, plusieurs travaux ont été menés sur les autres produits en particulier le pollen en raison de ses bienfaits nutritionnels et de ses nombreuses molécules bioactives. Le pollen est aujourd'hui utilisé comme complément alimentaire et pour certaines thérapies alternatives (**Rodríguez-Pólit et al., 2023**).

Les grains de pollen sont les gamétophytes mâles (génomme haploïde) des plantes à graines, ils sont transférés au stigmate par le vent ou par des insectes vecteurs après production par l'anthere des plantes à fleurs. Ce gamétophyte mâle est composé de deux cellules génératives dans une cellule végétale entourée d'un sporoderme à deux paroi (**Hegedüs et al., 2021**). Le pollen est récolté par les butineuses dans leur milieu naturel, la présence de pollen dans le nid est un préalable à une colonie normale (**Ismail et al., 2013**). Il est considéré comme un produit contenant une grande quantité d'ingrédient. En effet, plus de 250 composés ont été identifiés dans cette alimentation pollinique. La composition biologique active du pollen est que c'est un composé riche en protéines. Celles-ci représentent un taux de 20 % de la masse sèche du pollen. En outre, les protéines sont indispensables pour les organismes vivants. Le pollen est constitué également de glucides, lipides (métabolites primaires), de composé phénoliques de bioéléments et de vitamines (métabolites secondaire) (**Habryka et al., 2021**).

Les métabolites secondaires et primaires contenus dans le pollen d'abeilles présentent un large éventail de propriétés à savoir : des propriétés antioxydants , anti-inflammatoire et antibactérienne (**Denisow et Denisow- Pietrzyk, 2016**).

L'objectif de ce travail est d'apporter des éléments de réponse à la question suivante : **Quelles sont les potentialités biologiques des extraits de pollen provenant de cinq régions de Bejaïa ?** Pour cela, ce travail englobe deux parties : une synthèse bibliographique qui comporte « généralités sur le pollen » ainsi qu'un bref aperçu sur «les propriétés et la composition biochimique du pollen d'abeilles ». Une partie expérimentale regroupant le matériel et méthodes utilisés lors de différentes analyses réalisées et une discussion des résultats avec une conclusion.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I. Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur le pollen

I.1.1. Définition du pollen

Tiré du mot grec «pâle» qui signifie farine et poussière (**Blanc, 2010**). Les pollens sont les cellules reproductrices des plantes qui sont transportées de l'étamine au stigmate d'une autre plante par les abeilles, autres insectes, le vent et l'eau, entre autre. Il est crucial à la survie de la ruche ,car il représente le principal aliment des larves et pour cette raison les apiculteurs l'appellent «pain d'abeilles» (**LeBlanc et al., 2009**).

Le pollen est caractérisé par plusieurs couleurs, variant du blanc crème au brun foncé, présentant des dégradés jaune, orange ,rouge et vert ,selon l'origine taxonomique et la composition chimique de ses métabolites (**Almeida-Muradian et al., 2005**).



Figure 1 : Photographie de grain de pollen (**Jaroz, 2003**).

I.1.2. Aspect microscopique

Le diamètre du grain de pollen varie entre 2,5 à 250 μ m avec une forme plus ou moins ovoïde. Ces grains sont constitués de cellules végétatives et génératives entourés d'une double paroi de type matricielle (**Denisow et Denisow-Pietrzyk, 2016**).

Cette paroi est composée de deux couches protectrices : l'intine et l'exine.

-**L'intine** : c'est une couche de nature pecto-cellulosique et beaucoup plus fragile qui entoure la cellule végétative, renfermant des réserves essentielles pour la croissance du tube pollinique.

La majorité des propriétés du pollen sont attribuables à elle, car elle est composée de matières grasses gélifiées et colorées, très abondantes en caroténoïdes, arômes, polyphénols, flavonoïdes et vitamines antioxydants liposolubles (**Thibault, 2017**).

-L'exine : est la membrane externe du grain de pollen constitué de paroi compliqué, elle est composé de sporollémine (mélange esters de caroténoïdes et polymère oxydatif de caroténoïdes), cette paroi externe est souvent percé d'ouverture ou apertures.

Généralement l'exine est formé de deux parois, l'endexine et l'ectexine (**laaidi et al., 1997**).

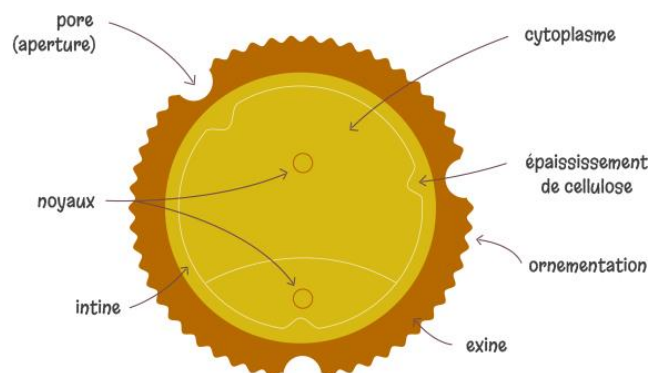


Figure 2 : Schéma de composition du grain de pollen (**chaussat, 2005**)

I.1.3. Importance du pollen

Compte tenu des besoins nutritionnels de tous les êtres humains et du cout élevé d'une alimentation d'excellente qualité, qui contient tous les éléments essentiels à la vie, le pollen est une alternative en tant qu'aliment d'excellente qualité que ce soit pour l'homme ou pour les l'abeille.

➤ Pour l'Homme

Selon certains auteurs, le pollen est considéré comme un complément nutritionnel extrêmement précieux pour les êtres humains en raison de la diversité de ses principaux composants et des moins importants comme les protéines , tous les acides aminés essentiels, une variété complète de vitamines (**Bradbear, 2011**). Il serait utile pour la reproduction, la croissance, le transit intestinal en traitant la constipation et la diarrhée. De plus, il posséderait des propriétés antibiotiques, en particulier contre la salmonelle et serait un puissant fortifiant en cas de fatigue physique. D'autres études ont décrit son impact sur certaines maladies hépatiques, l'hypertension artérielle ou les problèmes de prostate (**Blanc, 2010**).

➤ **Pour l'abeille**

Le pollen est considéré comme la source unique en protéines des abeilles, tandis que, le nectar fournit tous les nutriments nécessaires à leurs croissances et à leurs développements. En pratique les abeilles ouvrières consomment principalement le pollen dans les premiers jours de leur vie adulte et l'utilisent pour nourrir le couvain des larves en croissance (**Bradbear, 2011**).

I.1.4. Abeille

➤ **Définition et généralités**

Le mot « abeille », a été écrit pour la première fois en français au XIV^{ème} siècle, il fait référence à des insectes hyménoptères de la super –famille des *Apoidea*. *Apis mellifera* est la plus célèbre et la plus commune en Europe, comme la plupart des abeilles du genre *Apis*. Au niveau mondial, il y'aurait environ 20000 espèces recensées (**Thibault, 2017**).

Les abeilles se développent en relation avec l'émergence et l'évolution des plantes à fleurs (angiospermes), qui génèrent du nectar et du pollen. Le fossile d'abeille le plus ancien découvert est une abeille enfermée dans un morceau d'ambre datant de 40 à 100 millions d'années (**Adam, 2010**).



Figure 3: Photo d'abeille (**Djamai, 2018**).

Selon le service public de la santé publique et la sécurité de la chaîne alimentaire et de l'environnement. (2013), la colonie est un groupe d'abeilles qui peuplent la ruche, le premier apiculteur a émis l'idée qu'une colonie d'abeille pouvait être considérée comme un organisme unique. Elle constitue un système étroitement régulé, cette régulation met en œuvre des mécanismes tant physiologiques que comportementaux.

Il y'a quelques milliers, voir quelques dizaines de milliers d'abeilles et de larves dans la colonie d'abeilles. Dans cet ensemble d'individu, il n'y a pas de désordre, mais une société bien structurée et qui fonctionne de manière harmonieuse. En effet, trois castes structurent cette société d'abeille : la reine, les ouvrières et les faux bourdons (**Imdorf et al., 2010a**).

I.1.5. Colonie d'abeille

I.1.5.1. Caste de la colonie

➤ **La reine**

C'est la seule femelle fertile de la colonie, elle n'a pas les organes spécialisés qui caractérisent les ouvrières, seule la reine pond les œufs qui donne naissance à une descendance afin de garantir la durabilité de la colonie (**ANSES, 2008-2009**).

➤ **Les faux bourdons (les males)**

Ils ne forment pas une caste, il représente le sexe masculin (**Imdorf et al., 2010b**),et sont plus lourds que la reine et les ouvrières (**Gamus, 2022**).

➤ **Les ouvrières**

Celles-ci constituent la grande majorité de la population (femelles non reproductrices) ,au fil de leur vie elles exercent différentes activité nourricières, nettoyeuses, sécrétrices de cire, butineuses de pollen et de miel (**ANSES, 2008-2009**).

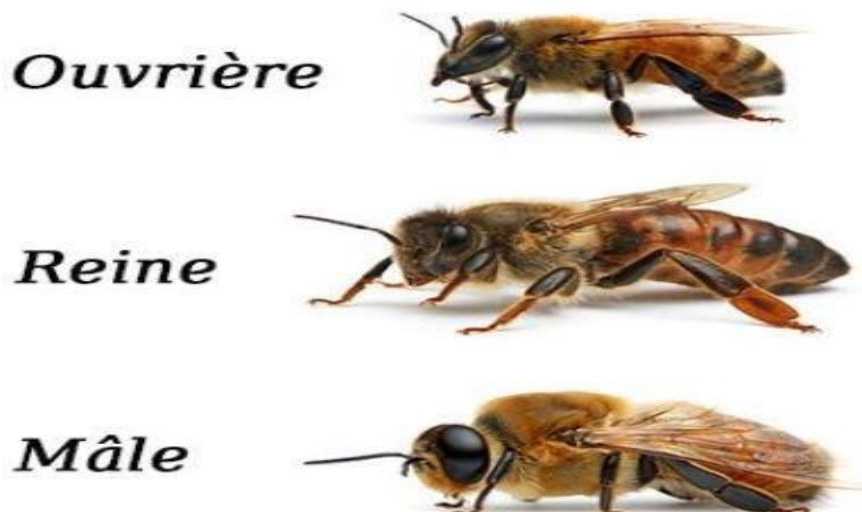


Figure 4: Les différentes castes chez l'abeille

I.1.5.2. Description physique

Selon la classe d'insectes, le corps d'une abeille est divisé en plusieurs parties différentes, à savoir : la tête, le thorax et l'abdomen.

Il existe deux catégories de femelles : les femelles stériles lesquelles sont plus petites (adultes de 10 à 15 mm de long) tandis que, les reines fertiles sont les plus grandes (18-20 mm). Alors que les males ont une longueur de 15-17 mm. Les abeilles sont en partie endothermiques, ce qui signifie qu'elles peuvent chauffer leur corps et celle de leur ruche en utilisant leur muscle de vol (Clarke *et al*, 2002, Pinto *et al*, 2004).

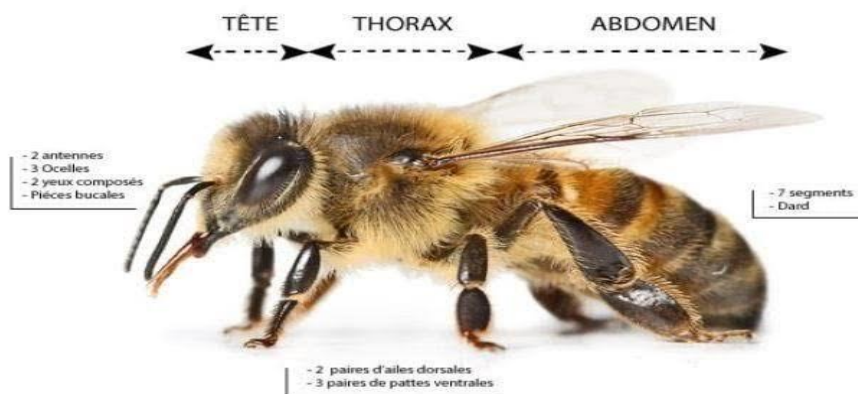


Figure 5: Photographie de morphologie d'abeille (anonyme ,2020)

I.1.5.3. Habitat de la colonie

➤ Définition de la ruche

La ruche est définie comme l'endroit où l'homme accueille les abeilles pour les élever et exploiter leurs productions. Les premières ruches datent de l'antiquité et sont traditionnellement constituées de poteries ou de contenants en osier dans lesquels les colonies sont installées. On appelle ces ruches « ruche vulgaires » car afin de récupérer le miel, l'homme doit asphyxier la colonie. Même si les grecs ont développé une sorte de ruche à cadres mobiles pendant l'Antiquité, il faut attendre la fin du XVIII^{ème} et le début du XIX^{ème} siècle pour observer l'apparition de ruches à cadres mobiles. De nos jours, de nombreux modèles des ruches existent (dadant, langstroh, layens ...), (Mauger, 2022).

I.1.6. Pollinisation

Après avoir atteint la partie femelle d'une plante, le grain de pollen se développe et un tube pollinique se forme dans le stigmate, permettant aux noyaux mâles d'atteindre les œufs

dans les ovules des fleurs .Il s'agit de la manière dont les plantes produisent des graines viables (**Bradbear, 2011**).

Etant donné que les plantes sont enracinées dans leur environnement, elles doivent se fertiliser mutuellement afin de permettre à certaines parties de la plante de voyager. Cela se produit lorsqu'on disperse les graines de pollen males et qu'elles atteignent les stigmates femelles d'autre plantes pour ce transport ou cette dispersion du pollen, chaque plante utilise des agents de pollinisation différents. En général, les herbes ont besoin de la puissance du vent pour propager leur pollen autant que possible, notamment transmis par les abeilles et d'autres insectes (**Bradbear, 2011**).

I.1.7. La récolte du pollen par les abeilles

Les plantes mellifères consacrent un grand effort à la fabrication de nectar sucré pour attirer les pollinisateurs. Etant donné que les nectares floraux sont souvent cachés au plus profond de la fleur, il est nécessaire que la butineuse se positionne sur la corolle de la fleur et élargit son proboscis jusqu'aux nectares. Pendant cette période de récolte le corps abdominal et le thorax sont touchés par la butineuse et sont couvertes de pollen, ainsi les abeilles, en se déplaçant de fleur en fleur, accumulent du pollen sur leur corps. Ensuite les abeilles se brossent avec leurs pattes pour former des pelotes à partir du pollen récolté (**Daechaumoncharmont, 2003**).

Au final, elles y ajoutent un peu de miel et de salive, ce qui stimule la fermentation et améliore ainsi la conservation et l'assimilation de ces produits. Ces pelotes sont fixées sur leurs pattes postérieures à un point que l'on nomme les corbeilles à pollen. Elles le rapportent ainsi à la colonie (**Roubik WD, 1996**).

I.1.8. Composition biochimique du pollen d'abeilles

Le pollen est constitué de protéine, lipides, sucre, fibres, minéraux, de composés phénolique et de vitamines. Il revêt une grande importance pour le régime humain en raison de sa concentration élevée en sucre réducteur, acide amines essentiel et en acide gras saturés et insaturés, ainsi que de la présence de Zn, Cu, Fe, et d'un rapport élevé de K/Na.

En l'occurrence, le pollen présente une composition très différente selon l'origine florale (**Campos et al., 2008**).

➤ **Eau**

Le pollen frais peut contenir jusqu'à 30 % d'eau. Généralement une concentration de 8 % après séchage est acceptée, bien que certains pays exigent des concentrations plus faibles afin de garantir une bonne conservation.

La teneur en eau est déterminée par la méthode de Karl Fisher (**Bogdanov et al., 2004 ; Campos et al., 2008 ; Komosinska-Vassev et al., 2015**).

➤ **Protéines et acides aminés**

Les composants de bases des protéines sont principalement des acides aminés. Il existe environ 20 AA très communs. Ces derniers sont également présents dans le pollen d'abeilles. La teneur en protéines du pollen varie de 10 à 40% selon le type de plante et environ 1/10 sont des acides aminés libres (**Bogdanov et al., 2004 ; Campos et al., 2008 ; Fluri, 2008**).

➤ **Lipides**

Les pollens présentent en général un profil caractéristique et spécifique d'AG selon leurs espèces. Les AG principaux dans le pollen sont les acides linoléique, linolénique, myristique et dodécanoïque. Mais aussi les lipides sont des éléments essentiels du régime alimentaire des abeilles et jouent un rôle crucial dans leur physiologie et leur comportement (**Auffray, 2020**).

➤ **Glucides**

Les glucides (monosaccharide et polysaccharide) sont parmi les plus grands constituants du pollen d'abeille qui représente près des deux tiers du poids sec total du pollens, et montrent une énorme allant de 18,50 à 82,80 % du pollen dans le monde (**Thakur et Nanda, 2020**).

➤ **Vitamine**

Les vitamines font également partie des éléments précieux du pollen. Ils sont présentes à la fois selon deux formes : liposolubles 0,1% comme les provitamines A et les vitamines E et D, et soluble dans l'eau 0,6% comme B1, B2, B6 et C (**Bogdanov et al., 2004 ; Komosinska-Vassev et al., 2015**).

➤ Composés phénoliques

Ils représentent en moyenne 1,6 % du poids total de pollen. Ce groupe comportant les flavones, les catéchines, les leucotriènes, et les acides phénoliques.

Le kœmpferol, la quercitine et l'isorhamnetine sont les plus présents dans le pollen, avec 1,4% tandis que dans le groupe des acides phénoliques contient 0,2% (acide chlorogénique) (Komosinska-Vassev et al., 2015).

➤ Minéraux

Le taux de cendres contenu dans le pollen est généralement, compris entre 2 et 4% du poids du pollen (Almeida-Muradian et al., 2005 ; Human et Nicolson, 2006). L'élément minéral principal dans le pollen est le potassium (environ 60% de la totalité des minéraux), suivi par le magnésium (environ 20%), sodium et le calcium (10%) (Compos et al., 2008).

➤ Autres substances

Le pollen est constitué de divers éléments comme les enzymes (lipases, protéase, glucosidase, phosphatase alcaline). On trouve aussi de la rutine, Beta-sitostérol, pigment responsable de sa couleur (Gamus, 2022).

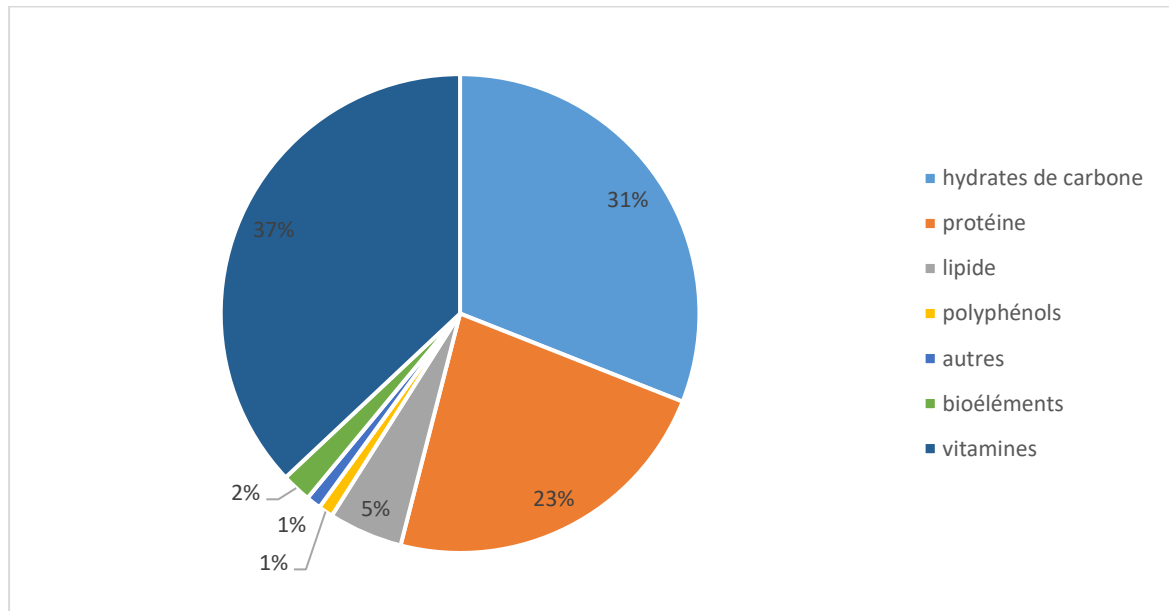


Figure 6: Rapport de la composition dans le pollen (Xi et al., 2018).

I.1.9. Propriétés organoleptiques

Tableau I : Les propriétés organoleptiques de pollen

ASPECT	Grain Fin
Couleur	Les pelotes de pollen sont généralement de couleur jaune, ou jaune brun, mais il est possible d'avoir d'autre couleur comme le rouge, le violet ou le noir, en fonction de son origine botanique (Thibault, 2017).
Saveur	Elle peut varier selon la couleur de grain et son origine, il peut être doux, acide, amer ou fort (Bogdanov et al., 2004).
Humidité	Selon Almeida-Muradian et al. (2005) la détermination de l'humidité du pollen est effectuée par gravimétrie jusqu'à un poids constant, à l'aide d'un four sous vide à 70°C.

I.1.10. Activités biologiques

I.1.10.1. Activité antioxydants

➤ Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes qui renferment un ou plusieurs électrons distincts. En générale la présence d'électrons non couplés donne un radical libre, un degré élevé de réactivité dans les systèmes vivants. Ces radicaux dérivés de l'oxygène constituent la classe la plus importante de ces espèces, on peut générer du ROS à partir de substance à la fois endogènes et exogènes (Valko et al., 2006).

Tableau II: Les espèces oxygénées réactives et les espèces non radicalaires (Munteanu et Apetrei, 2021).

Espèces oxygénées réactives		Les espèces non radicalaires	
Radical hydroxyl	HO*	Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Radical Superoxide	O ₂ *	l'oxygène singlet	¹ O ₂
Radical Hydroperoxyde	HOO*	Ozone	O ₃
Radicaux lipidique	L*	Hydroperoxyde lipidique	LOOH
Radicaux lipidiques peroxyliques	LOO*	Hypochlorures acides	HOCl
Radicaux peroxyliques	ROO*	Peroxynitrite	ONOO ⁻
Radical alcoxyl lipidiques	LO*	Trioxyde de dinitrogène	N ₂ O ₃
Radical de dioxyde d'azote	NO ₂ *	Acide nitrique	HNO ₂
Radical d'oxyde d'azote	NO*	Chlorure de nitrite	NO ₂ Cl
Thiyl radical	RS*	Nitroxyl anion	NO ⁻
Radicaux de protéines	P*	Nitrosyl cation	NO ⁺

➤ Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif se réfère à l'incapacité d'un organisme à se défendre contre les espèces oxygénées réactives (EOR), due à un déséquilibre entre leur production et la défense contre les antioxydants. Cela peut provoquer des perturbations de membrane via la peroxydation des lipides, d'oxydation de protéines et de mutations d'ADN. Les dommages moléculaires pendant le stress oxydant conduisent à une signalisation cellulaire élevée et favorisent l'apoptose. Les effets toxiques du stress oxydant soulèvent la question de la pertinence du complément nutritionnel antioxydants dans les maladies caractérisées par les dommages oxydatifs, telles que des maladies respiratoires (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

➤ Les antioxydants

Les antioxydants sont tous les composés qui peuvent inhiber directement la production, limiter la propagation ou détruire les espèces réactives de l'oxygène.

Ils ont la capacité d'intervenir en diminuant ou en détruisant ces espèces en les capturant pour créer un composé stable, en captant le fer libre ou en produisant du glutathion (Favier, 2003).

Plusieurs recherches démontrent que les antioxydants jouent un rôle crucial dans le maintien de la santé humaine, la prévention et le traitement des maladies en raison de leur aptitude à diminuer le stress oxydatif de manière significative (Munteanu et Apetrei, 2021).

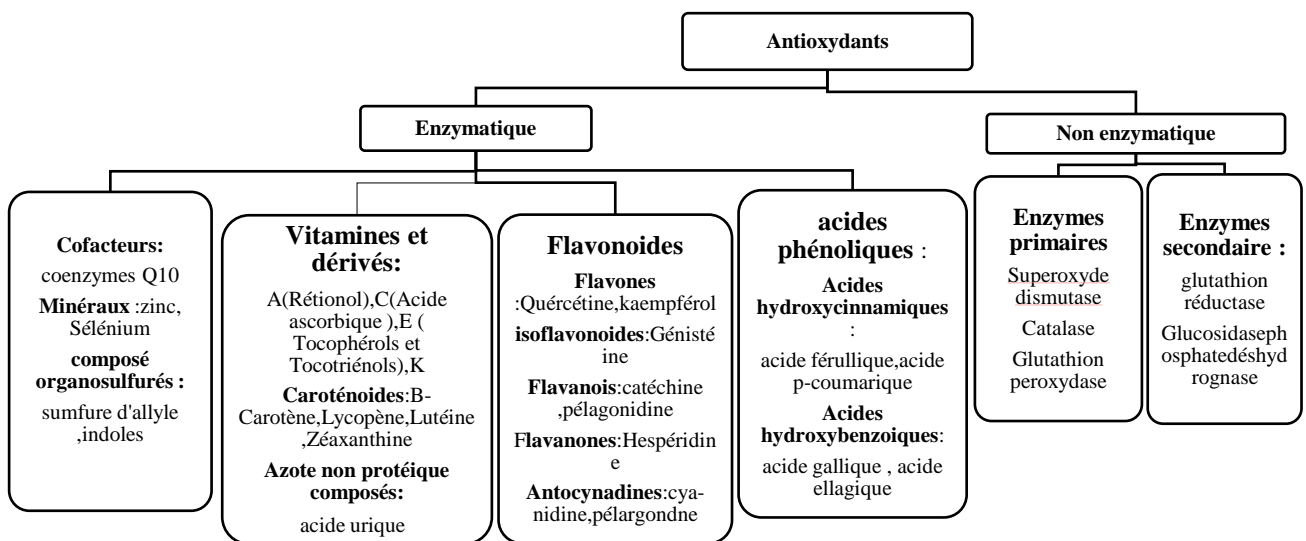


Figure 7: Classification des antioxydants (Munteanu et Apetrei, 2021).

➤ Activité antioxydants du pollen

Une des qualités les plus importantes du pollen est sa capacité antioxydante. Cela aide à prévenir plusieurs maladies en protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Des études ont montré que le pollen a une activité antioxydante plus élevée que le miel. Cette capacité antioxydante est attribuée à sa teneur élevée en polyphénols, caroténoïdes, vitamines C et E, phytoalexines et glutathion, de plus il existe des différences significatives dans l'activité antioxydante, la concentration de composants chimiques et les types de grains de pollen selon les espèces de plantes et les lieux d'origine (Rodríguez-Pólit et al., 2023).

I.1.10.2. Activité antimicrobienne

➤ Les principales substances antimicrobiennes

1. Les composés phénoliques

Différentes recherches ont été menées *in vitro* et *in vivo* pour évaluer les propriétés antimicrobiennes des polyphénols. Actuellement, cet effet est certain et prouvé par de nombreuses études expérimentales. Des recherches sur l'effet inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont montré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) ont un effet significatif sur divers souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (Ulanowska et al., 2007).

2. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont principalement des substances naturelles fabriqués par des micro-organismes végétaux. Grâce à leur forte activité biologique et sélective contre les micro-organismes, ainsi qu'à leur faible toxicité, certains antibiotiques peuvent être utilisés pour détruire les microbes *in vivo* (Korzybski-T et al., 1978).

➤ Activité antimicrobienne du pollen

Le pollen des abeilles est composé d'un mélange complexe de composés tels que glucose oxydase, les composés phénoliques végétaux, les flavonoïdes et les métabolites secondaires qui peuvent agir de manière synergique, renforçant ainsi leurs propriétés antimicrobiennes.

Certaines espèces de bactéries liées au pollen, comme les streptomyces, génèrent des antibiotiques qui permettent d'inhiber les pathogènes des abeilles de miel. Le pollen possède une activité antimicrobienne sélective qui ne nuit pas aux bactéries bénéfiques. Cela fait du pollen un candidat potentiel pour des applications antimycosiques qui ne perturbent pas les microbiotes naturels (Rodríguez-Pólit et al., 2023).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes

L'étude vise à évaluer les propriétés biologiques d'extraits de pollens collectés dans la région de Bejaia, en Algérie et à l'estimation de leur activité antioxydants et antimicrobienne. L'activité antioxydants a été évaluée à l'aide de différents tests standardisés : l'activité anti radicalaire du radical libre (DPPH), l'activité anti radicalaire (ABTS), le pouvoir réducteur, le test de FRAP, avant d'entamer cette évaluation on devait d'abord préparer les extraits des différents échantillons.

II.1. Echantillonnage

Le travail a été mené sur quelques échantillons de pollen apicole, récoltés dans différentes régions de Bejaia.

Tableau III : Régions de récolte des échantillons de pollen.

Echantillon	Région de récolte
P1	Souk El Ténine
P2	Tighremt
P3	Aokas
P4	Adekar
P5	Kherrata

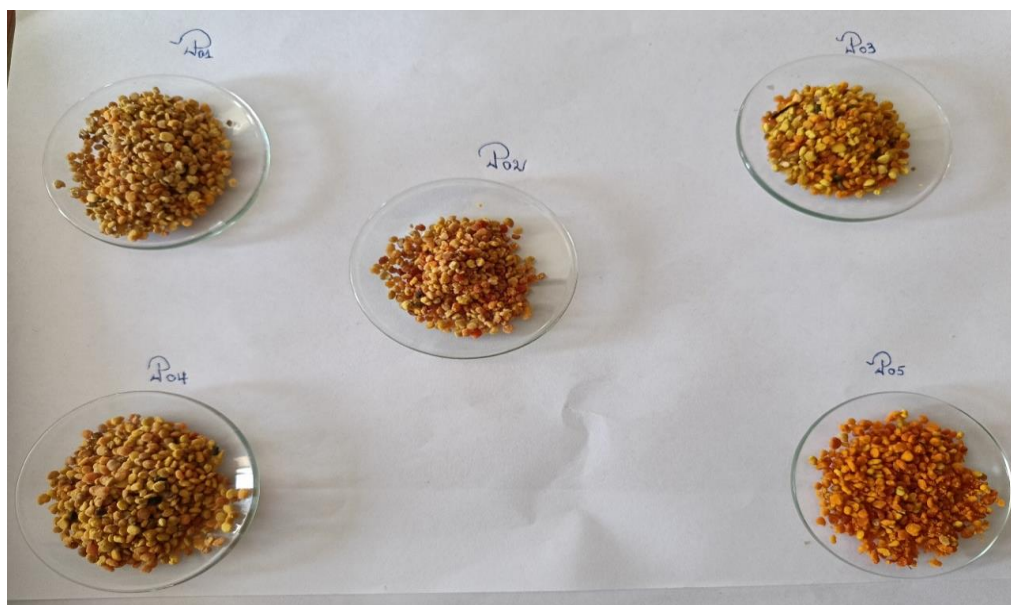


Figure 8: Echantillons de pollen analysés (Photo originale).

II.2. Préparation des extraits éthanoliques du pollen

Une quantité de 1g de pollen a été ajoutée à 70 ml d'éthanol pure (95%). Après agitation pendant 4 heures sur une plaque agitatrice, les mélanges ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre, les filtrats obtenus sont représentés dans la figure 9.

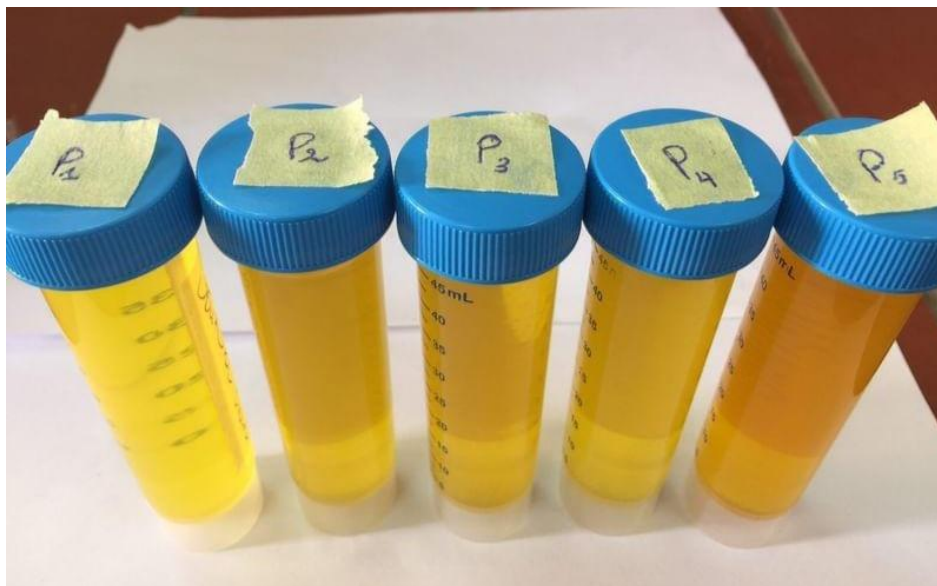


Figure 9: Extraits de chaque échantillon du pollen (photo Original).

II.3. Dosage des protéines

La teneur en protéine des différents échantillons de pollen a été déterminée par la méthode de **Bradford et al. (1976)**. Une méthode rapide et précise pour l'estimation de la concentration de protéines qui se base sur la liaison du colorant Blue de Coomassie G250 aux protéines, la quantité des protéines peut être estimée en déterminant la quantité de densité optique dans la forme ionique bleue (**Walker, 2002**).

Une quantité de 100 μ l d'extrait de pollen a été ajoutée à 5ml de réactif de Bradford. Après homogénéisation, l'absorbance a été lue à 595 nm, les résultats ont été exprimés en mg équivalent de BSA par 1g d'échantillon de pollen (mg EBSA /g).

II.4. Dosage des antioxydants

➤ Dosage des composés phénoliques totaux

Selon **Ribéreau et Gayon (1982)**, l'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et l'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40) forment le réactif de Folin-Ciocalteu.

L'oxydation des phénols le transforme en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La quantité de polyphénols présents dans l'extrait est liée à la coloration produite (*Nathalie, 2020*).

La teneur en composés phénoliques des différents extraits de pollen a été évalué selon la méthode décrite par **Naithani et al. (2006)**. Une quantité de 100µl d'extrait de pollen a été ajouté à 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 2 ml de la solution carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 2%, puis les incubé à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance a été lue à 750 nm. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de pollen (mgEAG /100g de pollen).

II.5. Activités antioxydants

II.5.1. Activité anti radicalaire DPPH

La technique d'évaluation du pouvoir antioxydants à l'aide du DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine) a été reposé sur la capacité d'un composé à réduire le taux de radical DPPH, cette réduction se manifeste par une modification de la couleur de la solution qui change de violet au jaune en présence d'un anti radicalaire (cette évolution correspond à la capacité antioxydants) (**Habibou et al., 2019**).

Un volume de 100µl d'extrait de pollen, été mélangé avec 1ml de solution DDPH suivi d'une homogénéisation. Après 15 min à l'obscurité l'absorbance a été lue à 517 nm. Le pourcentage de réduction du DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$PI(\%) = \left(\frac{Abs\ C - Abs\ E}{Abs\ C} \right) \times 100$$

Abs C : Absorbance du control , **Abs E** : Absorbance de l'échantillon

Le calcul du pourcentage de réduction en fonction de concentration des échantillons a été réalisé pour obtenir IC₅₀, définie comme la concentration de l'échantillon requise pour provoquer une inhibition de 50%.

II.5.2. Activité anti radicalaire ABTS

La méthode de radical ABTS a été utilisé pour mesurer l'activité anti-radicalaire en réduisant le cation radicalaire ABTS^{•+}(coloration bleu-vert) en présence d'un composé potentiellement anti-radicalaire .Cette diminution entraine une décoloration de la solution .

La réaction entre la molécule d'ABTS et le persulfate de potassium dans l'eau distillé a duré 16 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière permet d'obtenir l'ion radicalaire ABTS⁺ (N'negue ép.Mezui-Mbeng et al., 2022).

Le protocole a été réalisé selon **Re et al. (1999)**. Où un volume de 100µl d'extrait de pollen a été mélangé avec un volume de 1ml d'ABTS, l'absorbance du mélange a été 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 ont été exprimés selon la formule suivante :

$$PI(\%) = \left(\frac{Abs\ C - Abs\ E}{Abs\ C} \right) \times 10$$

Abs C : Absorbance du control , **Abs E** : Absorbance de l'échantillon

Le calcul du pourcentage de réduction en fonction de la concentration des échantillons a été utilisé pour obtenir IC₅₀, définie comme la concentration de l'échantillon requise pour provoquer une inhibition de 50%.

II.5.3. Pouvoir réducteur

De nombreuses études récentes ont démontré qu'il existait une corrélation directe entre les propriétés antioxydants et la capacité réductrice. Cette approche a été utilisée pour évaluer la capacité des substances de nos extraits à convertir le fer ferrique Fe³⁺ en fer ferreux Fe²⁺, qui a été l'une des actions antioxydants. Cela représente une méthode rapide, simple et reproductible (**Bentabet et al., 2014**).

Un volume de 500µl d'extrait de pollen, plus un volume de 1500µl de tampon de phosphate, et 1500µl de potassium hexacyanoferrate ont été homogénéisés et incubés à 50°C dans un bain marie pendant 20 min. Après incubation 1500 µl d'acide trichloracétique (TCA) ont été ajouté au mélange, puis un volume de 1250µl de ce mélange a été dilué dans 1250 µl de l'eau distillée, puis 1250 µl de chlorure ferrique (FeCl₃) ont été ajouté et homogénéisés. Après 10 min l'absorbance a été lue à 700 nm. Les résultats ont été exprimés en pourcentage.

$$\% = \left(1 - \frac{Abs\ C}{Abs\ E} \right) \times 100$$

Abs C : Absorbance du control , **Abs E** : Absorbance de l'échantillon

II.5.4. Test de FRAP

Le test de FRAP est une technique couramment utilisée pour évaluer la réduction du complexe d'ions dans le ligand de liaison avec le fer et le TPTZ à un PH faible (PH=3,6). Dans ce cas, une couleur Blue peut être quantifiée à 593 nm et démontre ainsi la capacité réductrice des antioxydants testés (Munteanu et Apetrei, 2021).

Le Test FRAP a été évalué selon le protocole décrit par Maksimovic *et al.* (2005). Un volume de 100µl d'extrait du pollen (dilué 1/5 :100µl d'extrait plus 400 µl d'éthanol), ont été prélevés et ajoutés à 1 ml de réactif de FRAP (rapport 100.10.10). Un volume de 100 ml tampon acétate de sodium (300Mm) et 10 ml de TPTZ (10Mm) ont ensuite été additionnés ,10 ml de FeCl₃ (20 Mm) ont été incorporés au mélange. Après 5 min l'absorbance a été lue à 593 nm. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'apparition de la nuance de couleur.

$$\% = \left(1 - \frac{Abs C}{Abs E}\right) \times 100$$

Abs C : Absorbance du control , **Abs E** : Absorbance de l'échantillon

II.6. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose décrite par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSL ,2015).

I.6.1. Préparation des échantillons de pollen

Les extraits préparés ont été mis dans le rotavapeur, une fois l'extraction a été terminée les échantillons ont été transférés dans l'étuves à température ambiante pour séchage.

Les extraits de pollen récupérés dans l'étuve ont été dissouts dans le DMSO puis ils ont été stérilisés avec des filtres de 0,45µm pour éliminer les champignons et un autre un de 0,22 µm pour éliminer les bactéries.

I.6.2. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié pour cette étude est le milieu de Muller-Hinton préparé comme suit : dissoudre 18g de gélose Muller Hinton dans 1litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète puis auto-claver pendant 30 min à 121°C et finalement couler le milieu dans des boites de pétri.

I.6.3. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture et les tubes à essai dans la préparation de l'eau physiologique (1,8g NaCl dans 200 ml d'eau distillée) ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 30 min.

I.6.4. Souches bactériennes utilisées

E. Coli : Escherichia est un genre de bactéries de la famille des Enterobacteriaceae, isolé pour la première fois en 1885 par un bactériologiste allemand Theodor Escherich. C'est une bactérie de gram négative qui se présente sous la forme d'une tige de 1.0-1.5µm*2.0-6.0µm. Elle peut se développer avec ou sans oxygène et peut résister à des milieux mal nourri. *E.coli* se trouve dans l'intestin humain ou animal et est capable de survivre dans des conditions difficiles (Rahayu, Nurjanah et Komalasari, 2017).

Staphylococcus Aureus : Il s'agit de Cocci gram positif de 0,5 à 1,5µm de diamètre, non sporulés, qui se regroupent en paires, petites chaînes, généralement non capsulées ou avec des capsules limitées. Ils peuvent être anaérobies. *Staphylococcus* peut être la cause des infections postopératoires de blessures, d'endocardite aiguë et d'intoxication alimentaire (Dworkin et al., 2006).

I.6.5. Ensemencement

Les souches bactériennes ont été ensemencées à la surface de la gélose à l'aide d'un inoculum de turbidité 0,5 McFarland (10^8 UFC ml⁻¹). Les boîtes de pétri ont été ensuite laissées à température ambiante durant 15min. Un volume de 50µl de chaque extrait a été déposé dans chaque puits, puis les boîtes ont été incubées pendant 24 heures à 37°C.

Le diamètre de chaque zone d'inhibition a été donné en mm, les extraits ont été classés selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (Ponce et al., 2003) : non sensible (<8mm), sensible (8 à 14 mm), très sensible (15 à 19 mm) et extrêmement sensible (>20mm).

II.7 Analyse statistique

Tous les résultats obtenus sont la moyenne de 3 essais pour chaque échantillon. Le programme Microsoft office Excel 2013 a été utilisé pour calculer les concentrations, les moyennes et les écartypes. Utilisation de logiciel STATISTICA7.1, pour faire une analyse de la variance (ANOVA), afin de mettre en évidence les différences significatives entre les échantillons du pollen de chaque paramètre étudié.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III. Résultats et discussion

Le tableau suivant présente les résultats obtenus pour l'analyse physico-chimique, teneur en antioxydants et activité antioxydants des différents échantillons étudiés.

Tableau IV : Dosage des protéines, teneur en antioxydants, et activité antioxydants des échantillons.

Echantillons	Activité antioxydants				Dosage des protéines	Teneur en antioxydants
	DPPH (IC50) ug/mL	ABTS (IC50) ug/mL	FRAP (%)	Pouvoir réducteur (%)	Protéine (mgEBSA/1g)	CPT (mgEAG/100G)
P1	375,90±0,51 ^d	370,74±24,31 ^d	28,77±6,32 ^{b, c}	73,55±2,53 ^b	85,46±29,47 ^a	4757,53±365,93 ^a
P2	759,20±53,97 ^b	741,87±11,18 ^b	33,37±2,17 ^{b, c}	70,57±2,02 ^b	73,87±12,57 ^a	3957,94±117,94 ^b
P3	823,48±45,30 ^{a, b}	792,09±39,59 ^b	54,88±10,07 ^{a, b}	66,68±3,23 ^{b, c}	90,98±19,69 ^a	3296,47±81,84 ^{c, d}
P4	929,28±57,20 ^a	585,48±63,04 ^c	40,92±1,38 ^{b, c}	68,79±5,92 ^{b, c}	80,79±12,05 ^a	3630,84±432,72 ^{b, c}
P5	639,44±38,67 ^c	1008,80±102,65 ^a	16,48±8,29 ^c	61,87±4,47 ^c	18,65±9,86 ^b	2922,12±186,32 ^d

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

III.1. Dosage des protéines

D'après le tableau IV et la figure 10, on Remarque une grande variation dans les résultats de nos échantillons de pollen, ils sont classés par ordre croissant : P5<P2<P4<P1<P3 ou la valeur la plus élevée est (90,98 mgEBSA/1g) et la plus faibles est (18,65 mgEBSA/1g).

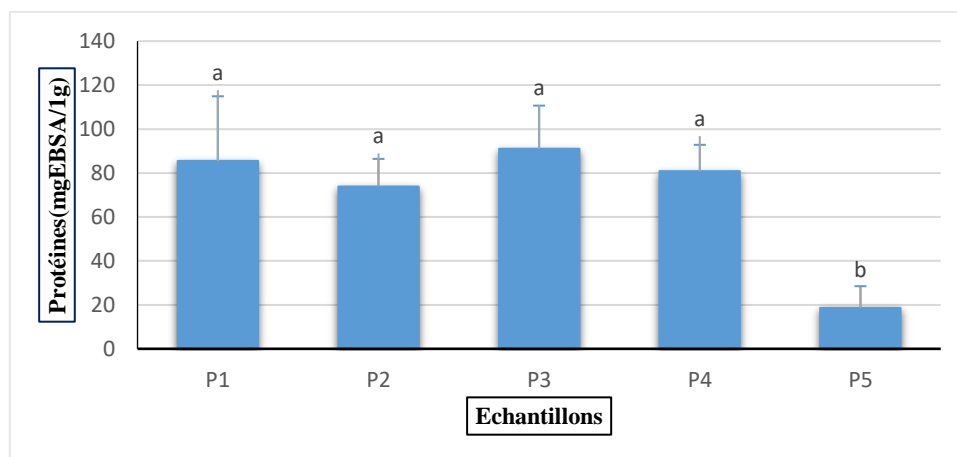


Figure 10: Teneurs en protéines des échantillons

Les résultats obtenus d'après l'analyse statistique montre que les échantillons P1, P2, P3, P4 ne diffèrent pas significativement à ($p < 0,05$), mais P5 diffère significativement avec ces derniers

III.2 Dosage des antioxydants

➤ Les composés phénoliques totaux

Les résultats de la présente étude montrent que la teneur en polyphénols des échantillons étudiés varient de 2922,12 (P5) à 4757,53 (P1) mgEAG/100g. L'échantillon P5 enregistre la plus faible teneur tandis que P1 enregistre la teneur la plus élevées. Sur la base des taux de ces composés, les échantillons sont classés selon l'ordre croissant : $P5 < P3 < P4 < P2 < P1$ (Tableau IV).

D'après la figure 11 il n'y'a pas une grande différence des teneurs en polyphénols entre les cinq échantillons. Ces résultats obtenues sont supérieures aux valeurs communiqué par **Bridi et al. (2019)**.

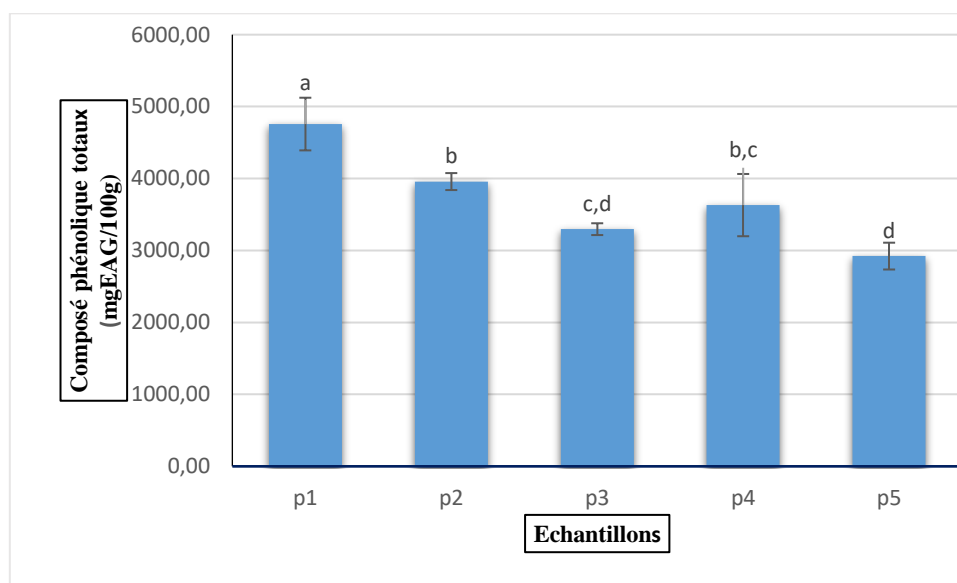


Figure 11: Teneur en composés phénoliques totaux des échantillons.

Du point de vu statistique il n'existe aucune différence significative à ($p < 0,05$) entre P2 et P4 et même pour P3 et P5 par contre le pollen P1 diffère significativement des autres échantillons.

III.3. Activité anti oxydants

II.3.1. Activité anti radicalaire DPPH

L'activité anti radicalaire des extraits a été exprimée en IC_{50} , ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats (**Abdelmadjid et al.,2005** ;

Ahmad et al.,2012 ; Ranga et al.,2009). Il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH; plus la valeur de IC₅₀ était petite plus l'extrait était considéré comme un antioxydant puissant.

D'après les résultats obtenus dans le tableau IV et la figure 12, le pouvoir anti radicalaire des échantillons étudiés vis-à-vis du radical DPPH varie de 375,90 à 929,28 µg/ml.

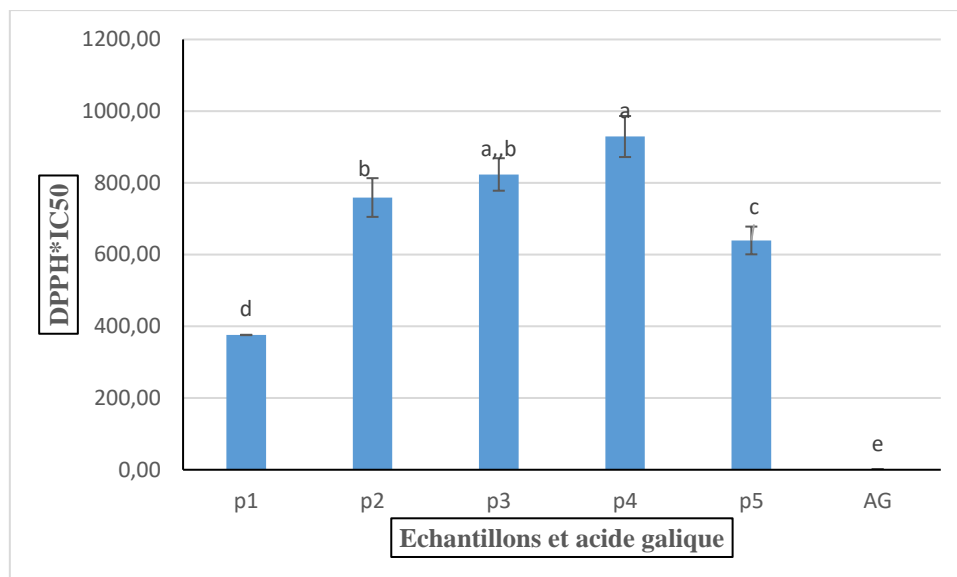


Figure 12: DPPH*IC₅₀ des échantillons et de l'acide gallique.

En comparant à la valeur d'acide gallique obtenue (1 µg /ml) Le pollen de Souk El Ténine (P1) présente la meilleure activité anti radicalaire suivie respectivement par le pollen de Kherrata (P5), de Tighremt (P2), d'Akoas (P3) et enfin le pollen de Adekar (P4) qui présente l'activité anti radicalaire la plus faible .Ces résultats sont supérieurs(considérer comme meilleurs) aux valeurs inclus dans **Lopes et al. (2020)**.

L'activité anti radicalaire du pollen P1 et P5 présentent des différences significatives à ($p < 0,05$), mais il n'existe aucune différence significative entre P2, P3 et entre P3, P4.

III.3.2. Activité anti radicalaire ABTS

Pour les échantillons de pollen étudié, la meilleure activité anti radicalaire est enregistrée pour le pollen de Souk El Ténine (P1) suivie de (P2, P3, P4) et celui de Kherrata (P5) qui enregistre une faible capacité anti radicalaire ABTS, ces valeurs enregistrées sont supérieures (était considérer meilleurs) à la valeur d'acide gallique obtenue (4µg/ml) et aux valeurs obtenues par **Lopes et al. (2020)**.

Les résultats illustrés sur la figure 13 à ($p < 0,05$) montrent que l'activité anti radicalaire ne présente pas une différence significative entre P2 et P3, tandis que les pollens P1, P4 et P5 enregistrent une différence significative.

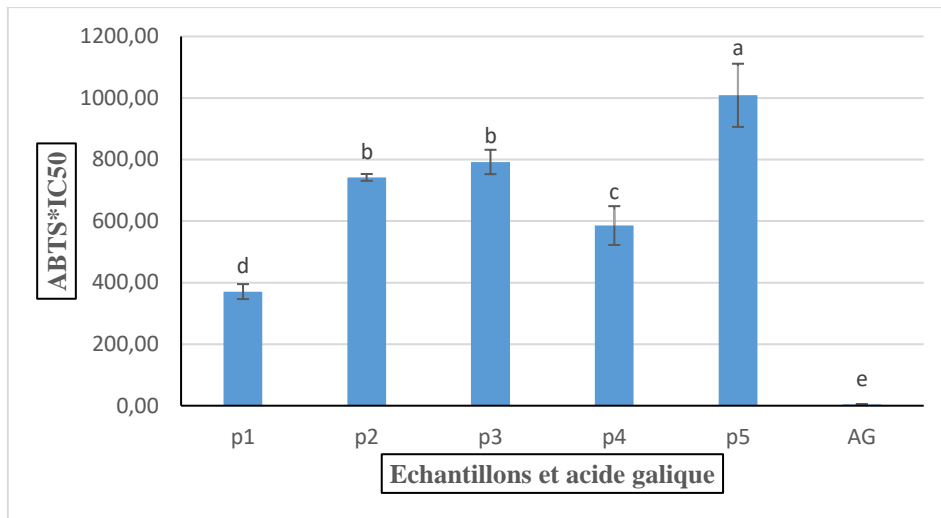


Figure 13 : ABTS*IC₅₀ des échantillons et de l'acide gallique

III.3.3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des échantillons des pollens analysé est représenté sur le tableau IV et la figure 14. D'après ces résultats, et par rapport au pourcentage d'acide gallique obtenu (83,90%) le pollen de Kherrata (P5) présente un faible pouvoir réducteur suivie respectivement par ordre croissant : P3 < P2 < P4 et on termine par le pollen de Souk El Ténine qui possède le meilleur pouvoir réducteur.

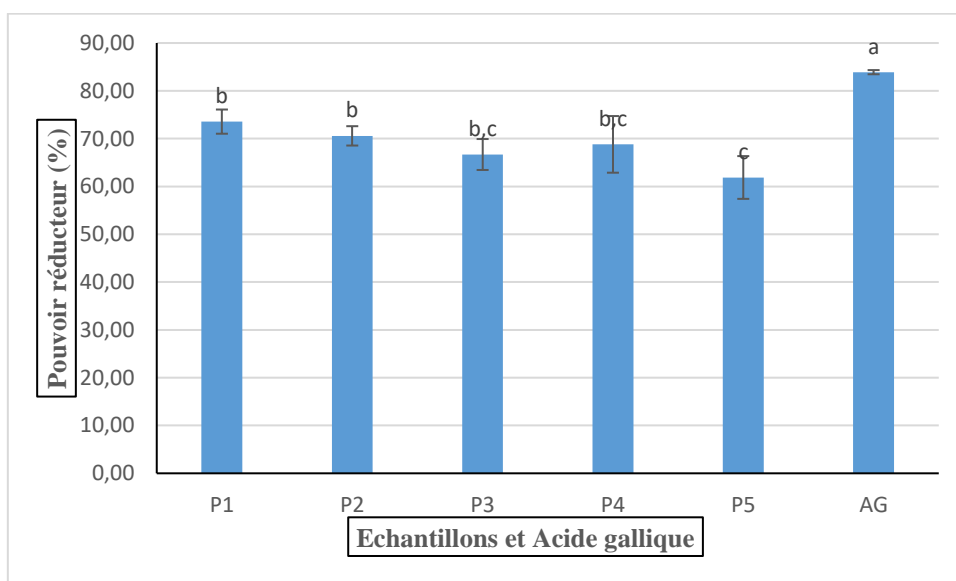


Figure 14 : Pouvoir réducteur (%) des échantillons et de l'acide gallique

D'après l'analyse statistique le pollen 1, 2, ne diffère pas significativement entre eux, de plus qu'il n'existe pas une différence significative entre P3 et P4. Par contre le pollen de Kherrata (P5) diffère significativement avec les autres échantillons.

III.3.4. Test de FRAP

Pour les échantillons de pollen étudiés, la capacité réductrice du test FRAP varie de 16,48% à 46,65 % pour les échantillons. En comparant ces valeurs à l'acide gallique (AG) qui a une valeur de 68,30% nous pouvons observer que tous les échantillons présentent des valeurs inférieures à celle de l'AG. Ces échantillons sont classés par ordre décroissant comme suite P3>P2>P4>P1>P5 (tableau IV, figure 15).

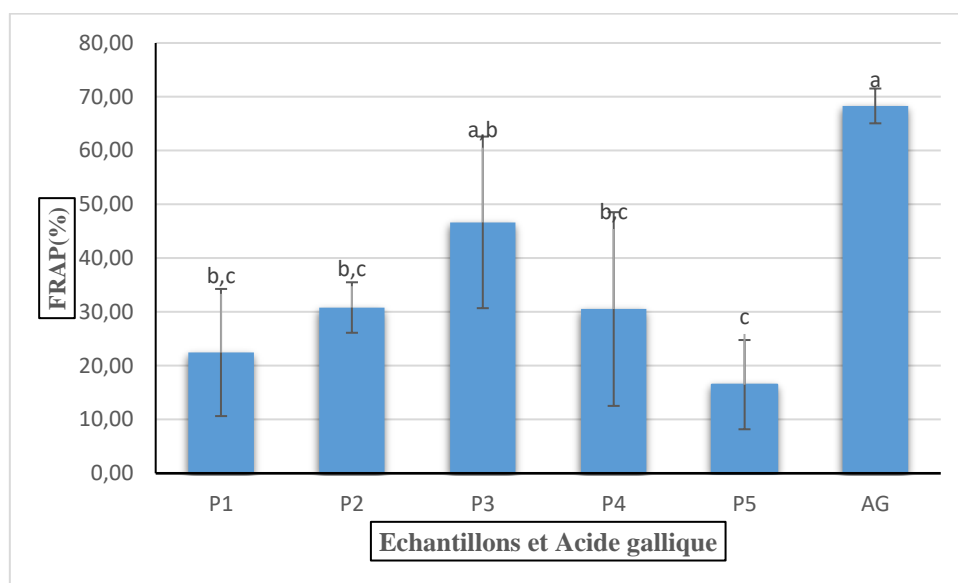


Figure 15: Test de FRAP (%) des échantillons et de l'acide gallique

L'analyse statistique de test FRAP a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre (P1, P2, P4), par contre le pollen de Kherrata et le pollen d'Aokas présente une différence significative entre eux mais pas avec les autres échantillons analysés.

III.4. Activité anti microbienne

L'évaluation de l'activité anti microbienne du pollen est basée sur les mesures des diamètres en mm des halos d'inhibition d'une concentration de 50 μ l de différents extraits de pollen. Ces mesures permettent de déterminer l'activité antimicrobienne du pollen *in vitro*.

Les diamètres d'inhibition obtenus avec nos extraits sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V : Diamètres d'inhibition obtenus avec les extraits.

Souche bactérienne	Echantillons	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>Escherichia Coli</i>	P1	9,5
	P2	13
	P3	0
	P4	13,5
	P5	0
<i>Staphylococcus Aureus</i>	P1	12,5
	P2	15
	P3	0
	P4	19,5
	P5	11

D'après le (Tableau V) qui représente les diamètres de zone d'inhibition obtenus avec les extraits, en comparant à l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne, la zone la plus élevée est observé pour le pollen 4 contre *Staphylococcus Aureus* (19,5 mm) et la plus faible c'est 0 mm de pollen 3 contre les deux souches bactériennes (**Ponce et al., 2003**). Pour le pollen de Souk El Ténine, le diamètre de zone d'inhibition (12,5mm-9,5mm) se situe dans la plage définie comme sensible (8à 14mm), cela suggère que cet extrait est efficace contre ces deux souches bactériennes. Par contre le pollen d'Aokas (P3) ne suggère aucune efficacité à ces deux souches à un diamètre de 0 mm.

Le pollen 2 et 4 exerce une efficacité contre *E. Coli* pour un diamètre (13mm -13,5 mm), mais une très grande efficacité contre *Staphylococcus Aureus* à un diamètre de (15mm à 19,5mm).

Le pollen de Kherrata (P5) suggère une efficacité contre *Staphylococcus Aureus* mais pas contre *E. Coli*.

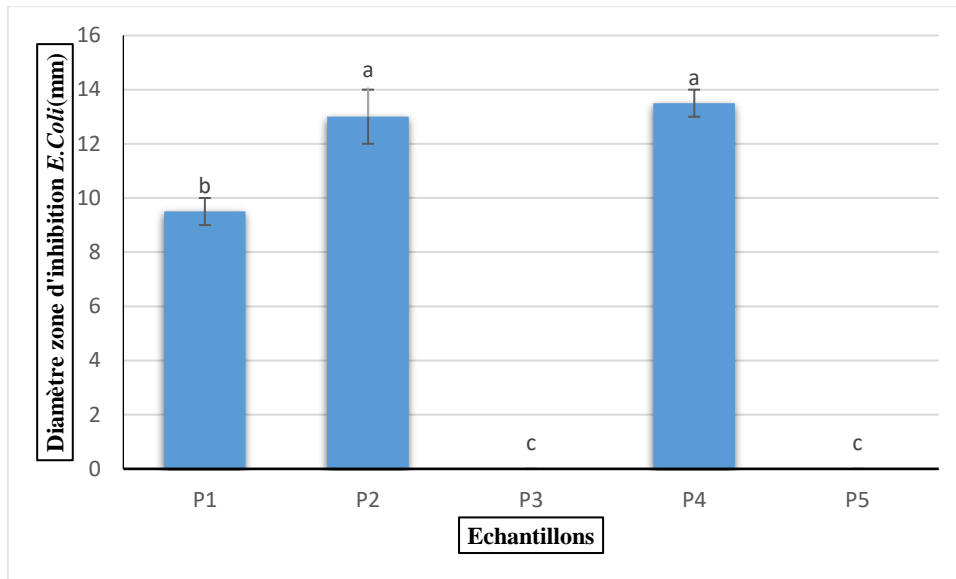


Figure 16: Diamètre de zones d'inhibition pour E. Coli des extraits

L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas une différence significative entre (P2 et P4), (P3 et P5) et le pollen 1 diffère significativement avec les autres échantillons (figure 16).vfg

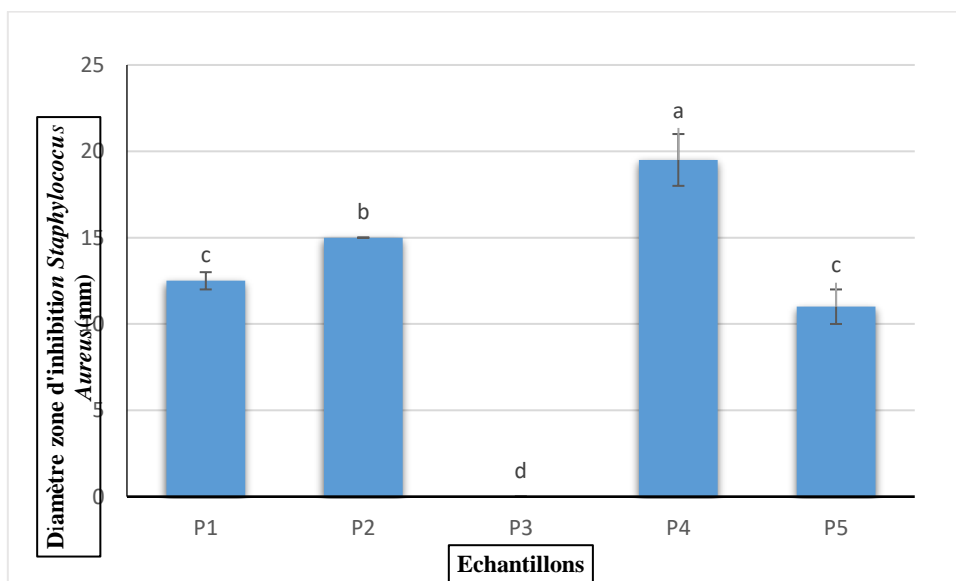


Figure 17: Diamètre de zone d'inhibition pour staphylococcus Aureus des extraits

Les résultats statistiques illustrés dans la (figure 17) montre une différence significative entre P2, P3, P4 et un groupe homogène (P1, P5).

Conclusion et perspectives

Les substances naturelles occupent une grande place dans notre vie quotidienne et surtout dans son large éventail de choix thérapeutiques qu'elles nous proposent. En effet, le pollen constitue une véritable banque de produits chimiques qui permettent l'amélioration de notre bien-être.

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

- Les résultats de dosage des protéines indiquent que le pollen d'Aokas et de Souk El Ténine représentent la meilleure teneur en protéines (85,46mgEBSA/g-90,98mgEBSA/g).
- Pour la composition en substances antioxydants, la quantité la plus importante est constaté pour le pollen de Souk El Ténine (4757,53mgEAG/100g).
- Tous les pollens analysés exercent des activités antioxydants, mais le pollen de Souk El Ténine représente la meilleure activité anti radicalaire du DPPH et de l'ABTS avec un IC_{50} de 375,90 μ g/ml et 370,74 μ g/ml respectivement et aussi le meilleur pouvoir réducteur avec 73,55% et test FRAP de 22,46% qui considéré comme moyen.

D'après ces résultats le pollen de Souk-El Ténine (P1) enregistre la meilleure teneur en antioxydants et une forte activité antioxydants.

L'évaluation antibactérienne de ces cinq échantillons de pollen provenant de différentes régions de la wilaya de Bejaïa montre que le pollen de Tighremt (P2) et de Adekar (P4) exerce une activité antibactérienne significative contre la bactérie à Gram (+) plus modeste que l'on observe sur la bactérie à Gram (-) suivie de pollen de Souk El Ténine qui suggère aussi une efficacité contre ces deux souches bactériennes. L'activité antibactérienne a été considérée en fonction de l'apparition des diamètres de zones d'inhibition.

Ces résultats confirment que le pollen est un aliment fascinant aux multiples vertus et un potentiel immense pour améliorer la santé humaine.

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

- Tester d'autres activités telles que l'activité antifongique et l'activité anti-inflammatoire.
- Etudier les effets du pollen sur des pathologies spécifiques tels que les maladies cardiovasculaires et le cancer.
- Développer de nouvelles formulations à partir du pollen, telles que des compléments alimentaires ou des produits cosmétiques.

Références Bibliographiques

A

Abdulmajed K., McGuigan C. and Heard C. M. (2005) Tropical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res.*; 39: 491-498.

Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A.(2012) DPPH free radical scavenging activity and Phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.).

Toxicol. Ind. Health.

Almeida-Muradian, L. B., Pamplona, L. C., Coimbra, S., & Barth, O. M. (2005). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.008>.

Auffray, V. (2020). Nutrition de l'abeille domestique productrice de miel (*Apis mellifera*) et de sa colonie : revue de la littérature. Thèse d'exercice, École Nationale Vétérinaire de Toulouse. <https://hal.science/>

B

Blanc, M. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse d'exercice, Université de Limoges. <https://www.apitherapiefrancophone.com/les-remedes-de-la-ruche/>

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

Bogdanov, S. (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37(2), 1-18. <https://doi.org/10.1051/apido:2005043>

Bradbear, N. (2011). Le rôle des abeilles dans le développement rural : Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. FAO.

Bridi, R., Atala, E., Pizarro, P. N., & Montenegro, G. (2019). Honeybee Pollen Load: Phenolic Composition and Antimicrobial Activity and Antioxidant Capacity. *Journal of Natural Products*, 82(3), 559-565. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00945>

C

Carneiro, A. L. B., Gomes, A. A., Alves Da Silva, L., Alves, L. B., Cardoso Da Silva, E., Da Silva Pinto, A. C., Tadei, W. P., Pohlit, A. M., Simas Teixeira, M. F., Gomes, C. C., & Naiff, M. D. F. (2019). Antimicrobial and Larvicidal Activities of Stingless Bee Pollen from Maues, Amazonas, Brazil. *BeeWorld*, 96(4), 98-103. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2019.1650564>.

Chauvin, R. (1958). Biologie de l'abeille revue générale jusqu'en 1956. *Annales de l'Abeille*, 1(1), 41-67. <https://doi.org/10.1051/apido:19580105>

Clarke, K., Rinderer, T., Franck, P., Janvier, Q., Oldroyd, B. (2002). The africanization of honeybees (*Apis-Mellifera* L) of the yucatan : a study of a massive hybridization event across time. *Evolution*, 56/7 : 1462-1474.

Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). (2015). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests ; approved standard ,12th Edition, document M02 A1.

D

Denisow, B., & Denisow-Pietrzyk, M. (2016b). Biological and therapeutic properties of bee pollen : A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303-4309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7729>.

Dechaume-Moncharmont F-X, Butinage collectif chez l'abeille *Apis mellifera* L, :étude théorique et expérimentale [Thèse]. Paris :Université Paris VI ;2003.

Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., & Stackebrandt, E. (Eds.). (2006). *Les Prokaryotes : Un manuel de biologie des bactéries* (3e éd.). Springer.

E

Ellis, A., Jamie Ellis, Michael O'Malley, and Catherine Zettel Nalen. (2010) "Benefits of Pollen to Honey Bees." ENY152/IN868. University of Florida,.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, novembre-décembre, 269-270 & 108-115.

G

Gamus, M.-N. (2014). De la ruche à l'officine: Guide pratique de l'apithérapie. Éditions Dangles.

H

Habibou, H. H., Idrissa, M., Khalid, I., Benjamin, O., & Rabani, A. (2019b). Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal ESJ*, 15(12). <https://doi.org/10.19044/esj.2019.v15n12p159>

Hegedüs, K., Fehér, C., Jalsovszky, I., Kristóf, Z., Rohonczy, J., Vass, E., Farkas, A., Csizmadia, T., Friedbacher, G., & Hantz, P. (2021). Facile isolation and analysis of sporopollenin exine from bee pollen. *Scientific Reports*, 11(1), 9952. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87619-8>

Hügel, M.-F. (1962a). Étude de quelques constituants du pollen. *Annales de l'Abeille*, 5(2), 97-133. <https://doi.org/10.1051/apido:19620201>

Human, H., & Nicolson, S. W. (2006). Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *Davyana* (Asphodelaceae). *Photochemistry*, 67(14), 1486-1492. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.05.023>

I

Indorf, A., Ruoff, K., & Fluri, P. (2010b). Le développement des colonies chez l'abeille mellifère. 68.

Ismail, A.-H. M., Owayss, A. A., Mohanny, K. M., & Salem, R. A. (2013). Evaluation of pollen collected by honeybee, *Apis mellifera* L. colonies at Fayoum Governorate, Egypt. Part 1 : Botanical origin. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 12(2), 129-135. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2012.09.003>

K

Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., & Musik, I. (2018). Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly : Possible Medical Application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1-29. <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>

Koehlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*.

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

L

LeBlanc, B. W., Davis, O. K., Boue, S., DeLucca, A., & Deeby, T. (2009). Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115(4), 1299-1305. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.055>

Leponiemi, M., Freitak, D., Moreno-Torres, M., Pferschy-Wenzig, E.-M., Becker-Scarpitta, A., Tiusanen, M., Vesterinen, E. J., & Wirta, H. (2023). Honeybees' foraging choices for nectar and pollen revealed by DNA metabarcoding. *Scientific Reports*, 13(1), 14753. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42102-4>

Lopes, A. J. O., Vasconcelos, C. C., Garcia, J. B. S., Pinheiro, M. S. D., Pereira, F. A. N., Camelo, D. D. S., Morais, S. V. D., Freitas, J. R. B., Rocha, C. Q. D., Ribeiro, M. N. D. S., & Cartágenes, M. D. S. D. S. (2020). Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Pollen Extract Collected by *Scaptotrigona affinis postica*: In silico, in vitro, and in vivo Studies. *Antioxidants*, 9(2), 103. <https://doi.org/10.3390/antiox9020103>

M

Maksimović, Z., Malenčić, Đ., & Kovačević, N. (2005a). Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*, 96(8), 873-877. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.09.006>

Mauger, M. (2020). Les ruches connectées : description des outils connectés commercialisés en France et présentation de leurs intérêts. DUMAS - Thèses électroniques doctorales - Université Gustave Eiffel.

Mohammad, S. M., Mahmud-Ab-Rashid, N.-K., & Zawawi, N. (2021). Stingless Bee-Collected Pollen (Bee Bread): Chemical and Microbiology Properties and Health Benefits. *Molecules*, 26(4), 957. <https://doi.org/10.3390/molecules26040957>

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021a). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity : A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

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

P

Pain, J., & Maugenet, J. (1966b). Recherches biochimiques et physiologiques sur le pollen emmagasiné par les abeilles. *Annales de l'Abeille*, 9(3), 209-236. <https://doi.org/10.1051/apido:19660302>

Pinto, A., W. Rubnik, R. Coulson, J. Patton, S. Johnston. (2004). Temporal pattern of africanization in a feral honeybee population from Texas inferred from mitochondrial DNA. *Evolution*, 58/5: 1047-1055

R

Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2017). *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko* (2e éd.). IPB Press

Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. and Madhusudana R. J.(2009) New furanoflavanoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical(DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem*; 17: 5170-5175.

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

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

T

Thakur, M., & Nanda, V. (2020). Composition and functionality of bee pollen : A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 82-106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.001>

Thibault, M. (2019). Le pollen apicole : Ses propriétés et ses utilisations thérapeutiques. HAL Université de Lorraine.

U

Ulanowska, K., Majchrzyk, A., Moskot, M., Jakóbkiewicz-Banecka, J., & Węgrzyn, G. (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62(2), 132-135. <https://doi.org/10.2478/s11756-007-0042-3>

V

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>

W

Walker, J. M. (Éd.). (2002a). *The protein protocols handbook* (Second Edition). Humana Press.

X

Xi, X., Li, J., Guo, S., Li, Y., Xu, F., Zheng, M., Cao, H., Cui, X., Guo, H., & Han, C. (2018). The Potential of Using Bee Pollen in Cosmetics : A Review. *Journal of Oleo Science*, 67(9), 1071-1082. <https://doi.org/10.5650/jos.ess18048>

Annexes

- **Annexe 01** : Préparation des réactifs et solutions utilisé dans les analyses de pollen

Réactif de Bradford pour 500ml :

Bleu de Coumassie 50mg, Ethanol 25ml, acide phosphorique(H₃PO₄) 50ml.

Solution de carbonate de sodium (2%) :

2g → 100ml

Solution tampon phosphate (0,2M) :

1M → 174,18g/1L

0,2 → x

X=34,84g

Pour 100ml

34,84g → 1000ml

X → 100 ml

X=3,484 g

Solution acides trichloracétique(TCA) 10% :

10g → 100ml

Solution chlorure ferrique (FeCl₃) 0,1% :

0,1g → 100ml

Solution potassium hexacyanoferrate (1%) :

1g → 100ml

Solution acétate de sodium (300Mm) :

2,46g → 100ml

Solution chlorure ferrique (FeCl₃) (20Mm) :

0,16 → 50ml

Solution TPTZ : 0,15g → 50ml

- **Annexe 02** : Les courbes d'étalonnage

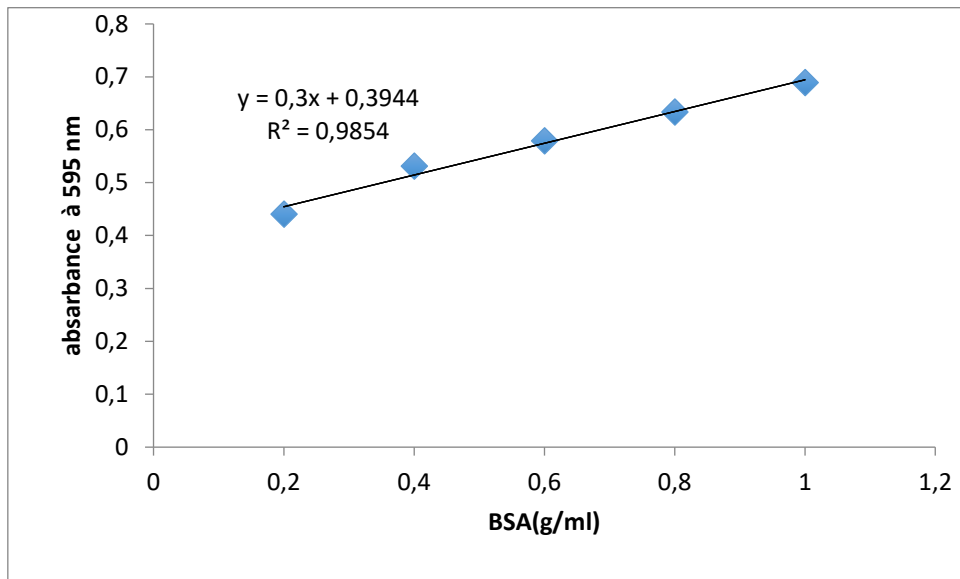


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des protéines .

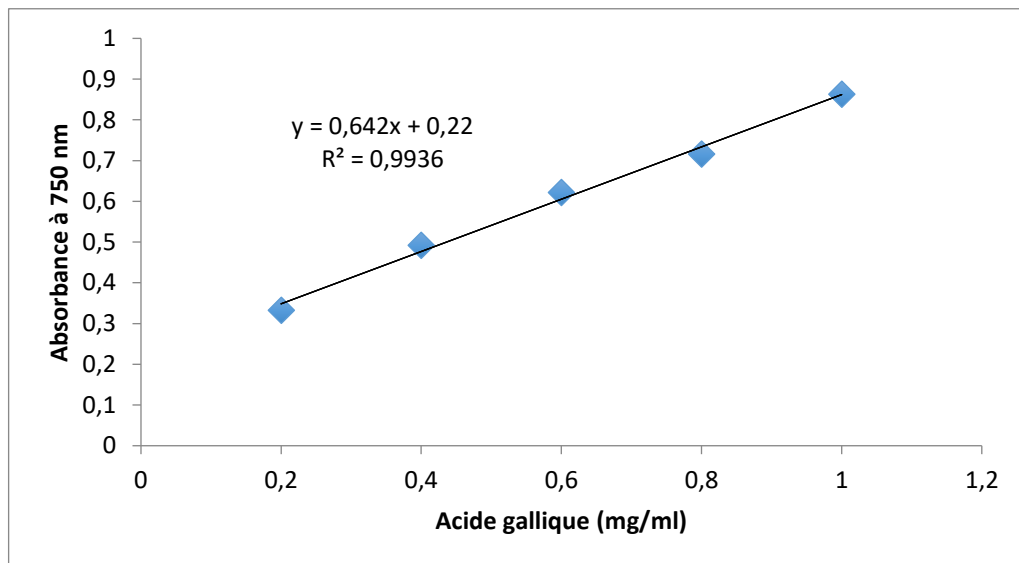


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux

Résumé

Dans le but d'évaluer les propriétés biologique de 5échantillons de pollen, collectés de différentes régions de Bejaïa (Kherrata, Souk El Ténine, Tighremt, Aokas, Adekar) nous avons effectués des analyse physico-chimique et mesuré leurs activités antioxydants et antibactériens. Les résultats révèlent les teneurs en protéines variant de $18,65 \pm 9,86$ à $90,98 \pm 19,69$ mgEBSA/g, ceux des taux en antioxydants confirment la présence des antioxydants tels que les polyphénols à des concentrations ($2922,12 \pm 186,32$ à $4757,53 \pm 365,93$ mgEAG/100g). L'activité antioxydants a été évaluée en utilisant les tests suivants : DPPH, ABTS, Test FRAP et le Pouvoir réducteur ,les résultats obtenus varient entre ($929,28$ à $375,90$ (IC₅₀), ($1008,80$ à $370,74$ (IC₅₀), ($16,48$ à $54,88$ %), ($61,87$ à $73,55$ %) respectivement .L'activité antibactérienne a été évaluée contre deux souche bactérienne gram (+) et gram (-). Elles ont été considérées en fonction de l'apparition de diamètres de zone d'inhibition. Le pollen de Tighremt et Adekar exerce une activité antibactérienne significative contre les bactéries gram(+) et gram(-), suivie de pollen de Souk El Ténine qui suggère aussi une efficacité contre ces deux souche.

Mots clés : pollen, activité antioxydants, activité antimicrobienne, composés phénoliques.

Abstract

In order to evaluate the biological properties of 5pollen samples collected from different regions of Bejaia (Kharrata, Souk El Ténine, Tigheremt, Aokas, Adekar) we carried out physicochemical analyses of their antioxidant and antibacterial activities. The results reveal protein contents ranging from 18.65 ± 9.86 to 90.98 ± 19.69 mg EBSA / g, those of the antioxidant levels confirm the presence of antioxidants such as polyphenols at concentrations (2922.12 ± 186.32 to 4757.53 ± 365.93 mg EAG / 100g). Antioxidant activity was evaluated using the following tests: DPPH, ABTS, FRAP test and Reducing power I, the results obtained vary between (929.28 to 375.90 (IC₅₀), (1008.80 to 370.74 (IC₅₀), (16.48 to 54.88 %), (61.87 to 73.55 %) respectively. Antibacterial activity was evaluated against two bacterial strains gram (+) and gram (-). It was considered according to the appearance of inhibition zone diameters. Tighremt and Adekar pollen exerts significant antibacterial activity against gram (+) bacteria more modest than observed on gram (-) bacteria followed by pollen from souk-El Ténine that also suggests efficacy against these two strains.

Keywords: Pollen, antioxidant activity, antibacterial activity, phenolic compounds.

ملخص

نظرا لأهمية منتجات خلايا النحل في حياة الانسان قمنا بتقييم الخصائص البيولوجية لخمسة عينات لحبوب الطلع من مناطق مختلفة في ولاية بجاية (خراطة، أوقاس، تيغرمت، سوق الاثنين، أدكار) من خلال فحص خصائصها المضادة للأكسدة، التحاليل الفيزيوكيميائية وكذا نشاطها المضاد البكتيريا، ولقد تراوحت النتائج بالنسبة لمحتوى البروتينات بين ($18,65 \pm 9,86$ إلى $90,98 \pm 19,69$) اما المحتوى البولي فينول لقد كان بين ($2922,12 \pm 186,32$ إلى $4757,53 \pm 365,93$). فما يخص نشاط المضاد للأكسدة فستعملنا عدة اختبارات DPPH، ABTS، le Pouvoir réducteur، FRAP (النتائج كانت كالتالي: $929,28$ إلى $375,90$ (IC₅₀) ، $1008,80$ إلى $370,74$ (IC₅₀)، $16,48\%$ إلى $54,88\%$ ، $61,87\%$ إلى $73,55\%$). أما النشاط البكتيري فكان ضد نوعين من البكتيريا (+) et (-) Gram عبر قيس Diamètre zone d'inhibition استنتجنا منه ان حبوب الطلع لمنطقة تغرمت وادكار تليها سوق الاثنين يمارسان نشاط مضاد ضد هاته البكتيريا

الكلمات المفتاحية: حبوب الطلع، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا، مركبات الفينولية.