



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE Et POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE "Mouloud MAMMERY" DE TIZI-OUZOU

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département d'Agronomie**

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Alimentaires

Option : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème

**Caractérisation du profil en acide gras et l'étude de
l'activité antioxydante de pollen d'abeille de trois
origines florales (Cytise, Ciste et Sainfoin)**

Présenté par :

- M^{lle} BRACHEMI Karima

- M^{lle} MOUSSAOUI Nabila

Dirigé par :

M^r BENGANA Mohamed M.C.B

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

- Président : M^r AMROUCHE T.

Maître de conférences « A » à l'UMMTO

- Examinatrice: M^{me} BANTEYEB S.

Maître-assistante « A » à l'UMMTO

- Examineur : M^r SADOUDI R.

Maître de conférences « B » à l'UMMTO

Promotion: 2017/2018

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la patience et nous a guidé à réaliser ce modeste travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de D^r BENÇANA MOHAMED, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent à M^{me} BENTAYB, D^r SADOUDI, D^r HOUALI et M^{me} HACID pour leurs aides pratiques et leurs soutiens moral et leurs encouragements.

A M^r Mohamed, ingénieur de laboratoire à l'INA d'avoir accepté de nous réaliser l'analyse d'acide gras du pollen par CPG.

Nous tenons à remercier les membres de jurés pour avoir acceptés d'examiner notre travail sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Enfin nos remerciements sont dressés plus particulièrement à nos familles et à nos amis qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années d'étude.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, mon cher père.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère.

A mes très chères sœurs Kahina et Samira, qui ont toujours été présentes dans tous mes moments d'examens par leur conseils et leur surprises sucrées, je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de sérénité.

A mes très chers frères El-Hadi et Achour, qui m'ont pas cessés de me conseiller, encourager et me soutenir tout au long de mes études. Que dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

A mon très cher fiancé Mohend Saïd, qui m'a aidé et encouragé, et pour sa gentillesse sanségale tout au long de ce travail.

A toi ma grand-mère, ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce mémoire soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir. Que dieu te protège dans son vaste paradis.

Sans oublier mon binôme Karima pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de cette belle expérience.

Nabila.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail particulièrement à mon cher père qui a consacré son existence à bâtir la mienne, pour son soutien, patience et surtout son souci de tendresse et d'affection, pour tous ce qu'il a fait pour que je puisse arriver à ce stade.

A ma mère qui ma encouragé durant toutes mes études.

A mon oncle BACHIR et mes deux tantes BAYA et NOUARA qui me sont très chers.

A mes chères frères : ALI, NACER, KHELIFA et a ma sœur MALIKA et son mari SALEM avec leur petite fille MELISSIA.

A mes chères belle sœurs NAWEL et KATIA.

A ma chère cousine CELIA.

A ma chère copine, sœur, binôme et tout sa famille exceptionnellement son père qui est un deuxième père pour moi qui a été toujours la pour nous et nous encourager et de nous accompagné durant tout nos études

J'adresse aussi mes dédicaces à mes amis (es) avec qui j'ai passé des moments agréables, en particulier: AIT MEDJBER AHMED, HAMID, SAID, OUARDIA, MELISSA, NAIMA, BELAID, OULAGHENI, MEHENNA Sans oublier toute la promotion des Sciences Alimentaire.

KARIMA

Résumé

Le pollen d'abeilles est considéré comme un complément alimentaire diététique qui a connu une large gamme d'utilisation avec ses propriétés thérapeutiques. Le but de notre étude est de caractériser sur le plan biochimique (les indices de qualité, le profil en acides gras, la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante) le pollen d'abeille issue de trois origines botaniques (sainfoin, ciste et le cytise). Les échantillons de pollen ont été obtenus à partir d'un rucher d'abeille situé dans la région de Naciria (w. Boumerdès), durant la période allant de la fin du mois de Mars jusqu'à la mi-Mai 2018. Les résultats obtenus révèlent l'influence de l'origine florale sur les caractéristiques chimiques des différents types de pollen. Les principaux résultats sont les suivants : dans le cas du taux d'humidité, le sainfoin (24%), le ciste et le cytise (37-39%) ; dans le cas du pH, le sainfoin (5,36), le ciste et le cytise (6). La teneur en composés phénoliques varient de 5,3 à 10,07mgGAE/g ; le pouvoir réducteur 9,45 à 15mg EAG/100g ; l'activité antioxydants varie de 0,107 à 0,609 mg acide ascorbique /g. Les valeurs les plus élevées, des paramètres précédents liés à l'activité antioxydante, ont été enregistrées dans le pollen de sainfoin. La teneur en lipides des différents types de pollen varie de 4,86 à 6,62%. Au total 13 acides gras ont été quantifiés. Ils sont réparties entre les AGS, AGMI, AGPI. Les plus importants sont : acide linoléique, acide linoléique et acide palmitique. Les taux les plus élevés des différentes classes d'acides gras sont les suivantes : Le pollen de cytise (AGS : 41,7%), le ciste (AGPI : 55%) et le sainfoin (AGMI : 34,8%).

Mots clés : pollen d'abeille, polyphénols, activité antioxydante, acides gras, origine botanique.

Abstract

Bee pollen is considered a dietetic dietary supplement that has had a wide range of uses with its therapeutic properties. The objective of our study is to characterize on biochemical level (quality indices, fatty acid profile, and phenolic content and antioxidant activity) bee pollen from three botanical origins (sainfoin, rockrose and the laburnum). Pollen samples were obtained from a bee apiary located in the region of Naciria (Boumerdès) during the period from the end of March to mid-May 2018. The results obtained reveal the influence of floral origin on the chemical characteristics of different types of pollen. The main results are: in the case of moisture, sainfoin (24%), rockrose and laburnum (37-39%). For the pH, sainfoin (5.36), rockrose and laburnum (6). The content of phenolic compounds varies from 5.3 to 10.07 mg GAE / g; the reducing power 9.45 to 15mg EAG / 100g; the antioxidant activity ranges from 0.107 to 0.609 mg ascorbic acid / g. The highest values of the previous parameters related to antioxidant activity, were recorded in sainfoin pollen. The lipid content of different types of pollen varies from 4.86 to 6.62%. A total of 13 fatty acids were quantified. They are divided between the AGS, AGMI and PUFA. The most important are: linoleic acid, linolenic acid and palmitic acid. The highest levels of the different classes of fatty acids are as follows: the laburnum pollen (AGS: 41.7%), rockrose (PUFA: 55%) and sainfoin (MUFA: 34.8%).

Key words: bee pollen, polyphénols, antioxidant activity, fatty acids, botanical origin.

Agzul

Ideqqis n tzizwa d afaris i sexdamen atas i tujjya ar imdanen di tgella di kra n waṭṭanen. Iswi n tezrawt-nney ad d-naf ayen yeeṅan (imataren n tɣara, amaṭṭaf deg AG, amaṭṭaf deg wuddis n phénol akked warmud l'antioxydant) Ideqqis yettuṣal ar kraḍ n imyan (tisulla, tuzzalt akked illegwi). Tiluma n udeqqis newwi-tent-id deg teyrasin i temnaḍt n Nasiriya (w.Bumerdas), i taggara n wayyur n meyras ar uzgen n wayyur n maggu 2018. Deg igemmuden nufa-d belli ideqqis yettemgarad ma yettwakkes-d deg imyi ar wayeḍ. Igemmeden i d-nufa a-ten-ad : ma tella tlexsi, tisulla(24%), tuzzalt d illegwi(37-39%), di PH, tisulla (5.36) tuzzalt d illegwi(6). Amaṭṭaf deg wuddis n phénol ttemgaraden 5,3 à 10,07mgGAE/g. Deg yizmir n réducteur 9,45 à 15mg EAG/100g . Armud antioxydant yemgarad 0,107à 0,609 mg amayus ascorbique. D tisulla i yesean atas gar yimyan i yellan i tezrawt-a. Ayen yeeṅan AG yettemgarad gar 4,86 à 6,62%. I kullec llan 13 n AG (AGS,AGMI,AGPI). Gar-asen: amayus linoléique,amayus linolinéque d palmitique. Ifmiḍiyien imeqqranen n AG deg imyan mmisetbaeen-d : ideqqis n illegwi(AGS : 41,7%), ideqqis n tuzzalt (AGPI : 55%) d ideqqis n tsulla (AGMI : 34,8%).

Awalen uqqinen : ideqqis n tzizwa, AG, imyan, armud antioxydante.

Sommaire

Résumés

Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : pollen d'abeille

1. Définition 03

2. Caractéristiques microscopiques du pollen d'abeilles 03

 2.1. Origine..... 03

 2.2. Structure 04

 2.3. Les différentes sortes du pollen..... 05

 2.4. Pollinisation..... 06

3. Récolte du pollen..... 06

 3.1 Les facteurs influençant la récolte du pollen d'abeille..... 08

4. Conservation du pollen..... 08

 4.1. Séchage du pollen..... 09

 4.2. La congélation 09

5. Conditionnement et stockage 10

6. Qualité du pollen récolté par les abeilles..... 11

 6.1. Critères de qualité du pollen..... 11

 6.2. Les facteurs influençant la qualité du pollen..... 13

7. Commercialisation du pollen 13

8. Autres domaines du pollen 13

Chapitre II : composition et effets thérapeutiques du pollen d'abeille

1. composition biochimique du pollen d'abeille..... 14

 1.1. L'eau..... 14

 1.2. Les protéines 15

 1.3. Les glucides..... 15

1.4. Les lipides	16
1.5. Les Vitamines.....	16
1.6. Les minéraux	17
1.7. Les enzymes	18
1.8. Les composés volatils responsables des émissions odorantes	19
2. Activité antioxydante	19
2.1. Radicaux libres.....	20
2.1.1. Définition	20
2.1.2. Principaux radicaux libres.....	20
2.2. Stress oxydatif	20
2.3. Classification des antioxydants	21
2.3.1. Antioxydants synthétiques	21
2.3.2. Antioxydants naturels.....	21
2.4. Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydants in vitro.....	22
3. Les propriétés thérapeutiques du pollen.....	22
3.1. Propriétés nutritionnelles.....	22
3.2. Propriété antioxydant	23
3.3. Propriétés anti-infectieuses.....	23
3.4. Propriétés anticancéreuses.....	24
3.5. Propriété hépato protectrice.....	26
3.6. Activité anti-inflammatoire	26
3.7. Action antiallergique	26
3.8. Action détoxifiante	27
3.9. Activité IMAO, intérêt comme antidépresseur	27
3.10. Autres propriétés thérapeutiques	27

Deuxième partie : Partie pratique

Chapitre I : Matériels et Méthodes

Les analyses physico-chimiques	30
--------------------------------------	----

1. Mesure de la teneur en eau	30
2. Mesure du pH	31
3. Mesure de la teneur en cendres	31
4. Mesure de l'acidité titrable.....	32
5. Extraction et dosage des polyphénols totaux de pollen.....	33
6. Détermination du pouvoir réducteur sur le ferricyanure	35
7. Mesure de l'activité antioxydante totale	36
8. Extraction et dosage des lipides.....	37
9. Détermination de profil en acides gras des lipides extraits	39
10. Analyses statistiques	39

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Teneur en eau	40
2. pH	41
3. Teneur en cendres.....	42
4. Acidité titrable.....	43
5. Teneur en polyphénols totaux de pollen	43
6. Pouvoir réducteur sur le ferricyanure.....	45
7. Activité antioxydante totale	45
8. Teneur en lipides.....	47
9. Composition en acide gras des lipides extraits.....	48
Conclusion.....	55

Références bibliographiques.

Annexes.

Liste des tableaux

tableaux	Titre	Page
I	Critères de qualité du pollen récolté par l'abeille (Manuel Suisse des Denrées Alimentaires (MSDA, 2004).	
II	Contaminants microbiologiques du pollen récolté par l'abeille (Campos et al., 2008).	
III	Teneurs moyennes en vitamines du groupe B.	
IV	Préparation des dilutions de l'acide gallique (AG) pour la réalisation de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux	
V	Préparation des dilutions de l'acide ascorbique pour la réalisation de la courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante	
VI	Le profil en acides gras du pollen d'abeille (%).	

Liste des figures:

Figure	Titre	page
1	Origine du grain pollen (Anonyme ,2018)	
2	Structure du grain de pollen (Dunod, 1998)	
3	Récolte du pollen par les abeilles	
4	Trappe à pollen d'entrée en bois (Jean-Louis, 2017)	
5	Composition moyenne du pollen d'abeille (Berry, 2015)	
6	Composition minérale du pollen d'abeille (Anonyme, 2014)	
7	la courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (en mg équivalent acide gallique/ml)	
8	la courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur (en mg équivalent acide gallique/ml)	
9	la courbe d'étalonnage pour la mesure de l'activité antioxydante des différents types de pollen (en équivalent g d'acide ascorbique/ml)	
10	Teneur en eau (%) des différents types de pollen	

11	Les valeurs du pH des différents types de pollen	
12	Les teneurs en cendre de différents types de pollen	
13	L'acidité titrable des différents types de pollen	
14	Teneur en polyphénols totaux (%) des différents types de pollen	
15	Pouvoir réducteur des différents types de pollen	
16	Activité antioxydante au phosphomolybdate des différents types de pollen	
17	Teneurs en lipides totaux (%) des différents types de pollen	
18	Le profil en acide gras des différents types de pollen.	
19	Profil en AGS des différents types de pollens d'abeilles	
20	Profil en AGMI des différents types de pollen	
21	Profil en AGPI des différents types de pollen	

Liste des abréviations

ABTS : 2, 2-Azinobis 3-éthyle-Benzo Thiazoline-6-Sulphonate

ALAT : Alanine aminotransférase

AOAC : Association des chimistes analytiques officiels

ASAT : Aspartate aminotransférase

BHA : Hydroxyanisole butylé

COX : Cyclo-oxygénase

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DPPH: 2' 2-Di Phenyl-1-Picryl hydrazyl.

DTHMP : Di-Terbutyl-4-Hydroxy Méthyl Phénol

EAG : Equivalent d'acide gallique

EMP : Extrait méthanolique du pollen

EMS : Méthane sulfonate d'éthyle

Gy : Unité (gray)

HBP : Hyperplasie bénigne de la prostate

HDL : Lipoprotéine de haute densité

H3PMo12O40 : D'acide phosphomolybdique

H3PW12O40 : D'acide phosphotungstique

IGF-1 : Facteur de croissance analogue à l'insuline-1

Ig: Immunoglobine

IMAO : Inhibiteur monoamine oxydase

LDL : Lipoprotéines de basse densité

MAO : Monoamineoxydase (MAO)

MeOH : Méthanol

MO : Matière organique

Mo8O23: Molybdène

MSDA : Manuel Suisse des Denrées Alimentaires

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide

NDGA : Acide Nor Dihydro Guai Aretique

NO: Monoxyde d'azote

PG : Gallate de Propyle

PGE: Prostaglandine

PGI: Prostacycline

PNDA : Plan national de développement agricole

TBHP : Tert-butylhydroperoxyde

TBHQ : Butylhydroquinone tertiaire

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale

W8O23 : D'oxydes bleus de tungstène

Introduction

L'abeille vit en société, sous forme d'une colonie. Cette dernière est constituée de milliers d'individus : une reine, mère de tous les individus, de milliers d'abeilles et une dizaine à une centaine de faux bourdons. Une colonie d'abeille, pour assurer sa pérennité, se nourrit du nectar et du pollen produit par les fleurs de certaines espèces végétales, appelées plantes mellifères. Le nectar, qui est une sécrétion sucrée de la fleur, est butiné par l'abeille et transporté dans son jabot, et à l'arrivée à la ruche elle le transforme en miel. C'est ce produit qui a rendu l'abeille intéressante pour l'homme. Ainsi, comme le témoigne les civilisations anciennes, l'exploitation de l'abeille par l'homme remonte à des millénaires. Aujourd'hui, l'élevage de l'abeille ou l'apiculture est devenue une filière agricole qui génère des revenus économiques importants. En effet, l'abeille est utilisée d'une part dans la pollinisation des espèces agricoles dans le but d'améliorer la quantité et la qualité des fruits et légumes et d'autre part dans la production des différents produits de la ruche : le miel, le pollen, la gelée royale, la cire, la propolis ainsi que le venin. Ces différents produits sont utilisés pour des fins alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

Les produits de la ruche sont utilisés depuis les temps les plus anciens dans la médication. Aujourd'hui, appuyé par les résultats de la recherche scientifique probants, une spécialité de médecine, appelée apithérapie, est dédiée à la médication par les produits de la ruche. L'apithérapie gagne de plus en plus du terrain par sa réputation d'une médecine alternative, utilisant des produits naturels sans effets secondaires.

Parmi tous les produits de la ruche, le miel et le pollen sont les deux principaux produits considérés comme aliments, et qui ont bénéficié, en outre, du statut du complément alimentaire, classés ainsi dans la catégorie des produits parapharmaceutiques. Ces deux produits de la ruche sont de nature et de composition chimique très différente. Dans le cas du pollen, sur le plan biochimique, en plus d'être une source importante de protéines, il contient également des glucides, des lipides, des minéraux, des vitamines, des cendres, de l'eau et d'autres substances (Tomas-Lorente et al., 1992). Le pollen contient, en outre, des pigments lipidiques provenant des anthères des fleurs. L'origine florale et la composition de ces pigments, nous permet par conséquent de distinguer plusieurs couleurs des pelotes de pollen, qui varient de blanc et crème au brun foncé, et les plus représentées sont le jaune, l'orange, le rouge, le vert et le gris (Stanley and Linskens, 1974).

Sur le plan thérapeutique, le pollen d'abeille, de par sa richesse en constituants nutritionnels et en éléments bioactifs et de par aussi ces effets bénéfiques sur la santé,

constitue aujourd'hui l'un des principaux produits de la ruche qui suscite l'intérêt de beaucoup de personnes de part le monde, et sa consommation ne cesse d'augmenter. En Algérie, avec l'essor qu'a connu l'apiculture depuis l'avènement du PNDA, de nombreux apiculteurs s'intéressent au pollen d'abeille, comme second produit après le miel, puisqu'il constitue un revenu supplémentaire de leur exploitation.

La région de la Kabylie, réputée par sa biodiversité végétale, figure parmi les régions à forte potentialités apicoles du pays. Le pollen produit dans cette région est de type polyfloral. De point de vue qualitatif, l'origine florale du pollen influence sa composition biochimique, et donc sa valeur nutritionnelle, sa richesse en éléments bioactifs et sa conservation (Bogdanov, 2014). Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la caractérisation biochimique, particulièrement le profil en acides gras, la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante, de trois types de pollen provenant de trois espèces végétale très répandues dans la région de la Kabylie, et qui sont le sainfoin, le cytise et le ciste.

1. Définition

Comme son étymologie grecque l'indique (palé qui signifie farine, poussière), le pollen se présente sous la forme d'une fine poussière dont la couleur varie selon la plante d'origine (blanchâtre, jaune, verte, rouge ou marron) qui a généralement une forme sphérique à ovoïde. De cette même racine est né également le mot « palynologie » correspondant à l'étude scientifique du pollen (Almeida LB-Muradian et *al.*, 2005).

Le pollen est la semence mâle produite par les étamines des fleurs. Il est constitué d'une multitude d'éléments microscopiques contenues dans les anthères des étamines (Jeans-Prost et Medori, 2005), du tissu sporogène, contenu par les sacs polliniques des grains de pollen il se présente sous forme de « pelotes » collées sur les pattes des abeilles. Une pelote pèse de 20 à 25 mg ; elle contient 3 ou 4 millions de grains de pollen, qui représente l'exploration de centaines de fleurs.

La composition du pollen peut varier selon leur origine botanique et géographique (Almaraz-abarca et *al.*, 2004). Il contient des glucides, des acides aminés, des protéines, des lipides, des vitamines, des minéraux, des composés phénoliques, des flavonoïdes et des phytostérols et est également riche en substances phytochimiques (Carpe, 2007). Il est considéré comme l'un des aliments les plus complètement nourrissants de la nature. Depuis le milieu du 20^e siècle l'homme s'est rendu compte de l'utilité et des avantages que présente le pollen pour la consommation humaine (Carpe, 2007).

2. Caractéristiques microscopiques du pollen d'abeille

2.1. Origine

Les grains de pollen constituent les gamétophytes mâles des angiospermes selon la figure (01) : ils se forment dans les deux loges polliniques situées dans les anthères, à l'extrémité des étamines. Chaque loge comporte deux sacs polliniques qui contiennent et protègent les cellules mères des microspores.

Celles-ci donnent naissance, après une méiose puis une mitose, à des grains de pollen (Raven et *al.*, 2007). La rupture d'une zone de moindre résistance située entre les deux sacs polliniques d'une même loge permet la libération des grains de pollen arrivés à maturation (Gharbi, 2011).

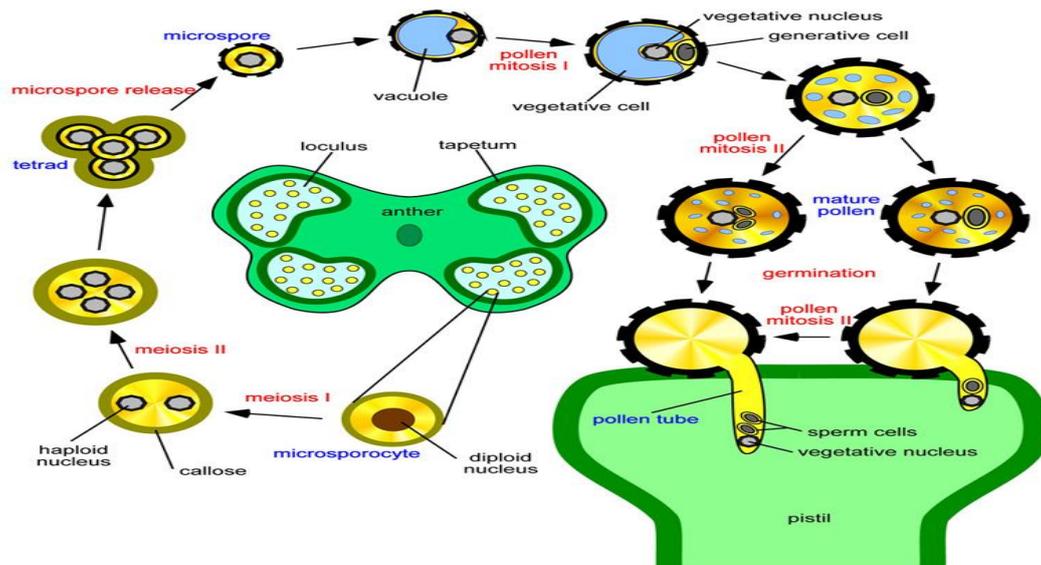


Figure 01 : Origine du grain pollen (Anonyme,2018).

2.2.Structure

Les grains de pollen ont une morphologie très variable selon les espèces végétales (Andrada et *al.*, 2005 ; Hesse et *al.*, 2005 ; Kalinowski et *al.*, 2005 ; Krassilov et *al.*, 2007).

En général, le grain de pollen est entouré de deux couches protectrices : l'intine et l'exine. L'intérieur du grain est constitué par le cytoplasme contenant deux noyaux : végétatives et reproducteurs, et d'organites chargés de réserves utilisées au moment de la germination. Le cytoplasme est très appauvri en eau et très enrichi en matière sèche (Misset et *al.*, 1989).

La couche externe, connue sous le nom exine, est très résistante et faite de sporopollénine (Rowley, Claugher, et Skvarla., 1999). Elle offre une résistance chimique et préserve les composés bioactifs.

Il faut noter que l'exine ne présente pas la même structure sur tout le pourtour du grain de pollen. Il existe en effet des zones différenciées appelées ouvertures. Ces ouvertures sont des zones de moindre résistance qui permettront la sortie du tube pollinique lorsque le grain de pollen sera au contact d'un stigmate compatible (Misset et *al.*, 1989).

La couche interne est appelée l'intine. Elle est constituée de cellulose et est structurellement similaire à une paroi cellulaire végétale (Blackmore, Wortley, Skvarla, et Rowley, 2007). Elle est composée, aussi, de pectines (Chauzat et *al.*, 2005). De plus, dans les

cavités du sporoderme ou à la surface du grain, existent des substances plus ou moins fluides, appelées tryphine et pollenkitt, ce sont des substances physiologiquement actives.

La tryphine et le pollenkitt constituent un manteau pollinique, le pollencoat, qui intervient dans les réactions de reconnaissance entre pollen et stigmate lors de la fécondation qui se fait d'une manière proche de celle d'une réaction immunitaire (Dobsonet al., 2000). Ce manteau permet l'adhésion des grains sur le corps de l'insecte (Roulston et al., 2000a).

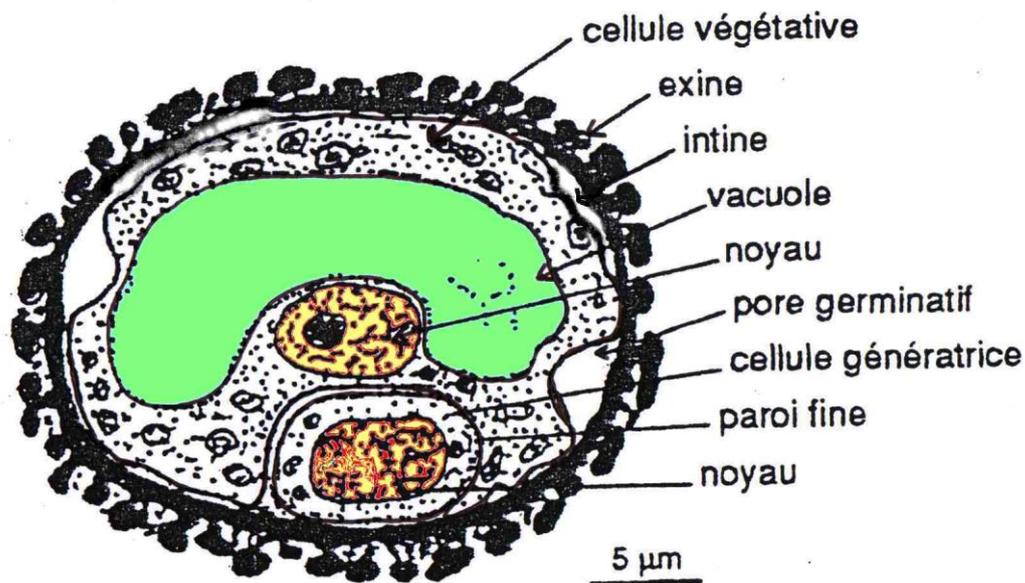


Figure 02 : Structure du grain de pollen(Dunod, 1998).

2.3. Les différentes sortes du pollen

Le pollen se distingue, selon :

- La composition qui varie d'une plante à une autre, il en est de même de ses propriétés et usage que l'on en fait en médecine (Cherbuliez,2001).
- On peut également définir les sortes de pollen en fonction de leur période de récolte (pollen de printemps, pollen de l'été, pollen d'automne dans le climat tempéré) (Cherbuliez, 2001).
- Le pollen spécifique, tout comme le miel, à la région géographique d'origine (Phillippe,1999).

2.4. 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) (Darrigol, 1979 ; Donadieu, 1983 ; Boullard, 1997).

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 (Chauvin, 1987 ; Bellanger, 2009).

3. Récolte du pollen

a) Par les abeilles

La récolte se fait principalement à la fin de l'hiver et au printemps. La moyenne de production se situe aux alentours de 2 à 3 kg de pollen par mois et par ruche, avec des écarts d'une colonie à une autre, variables d'un facteur de 1 à 10. La quantité de pollen récoltée est selon Louveaux et Jean-Prost, (2005)proportionnelle à la surface de couvain.

Pour récolter le pollen, 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.

Le mécanisme de confection se décompose en plusieurs étapes (Apimondia, 2001) :

- 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.
- 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, l'aspect des pelotes varient d'une espèce à l'autre.

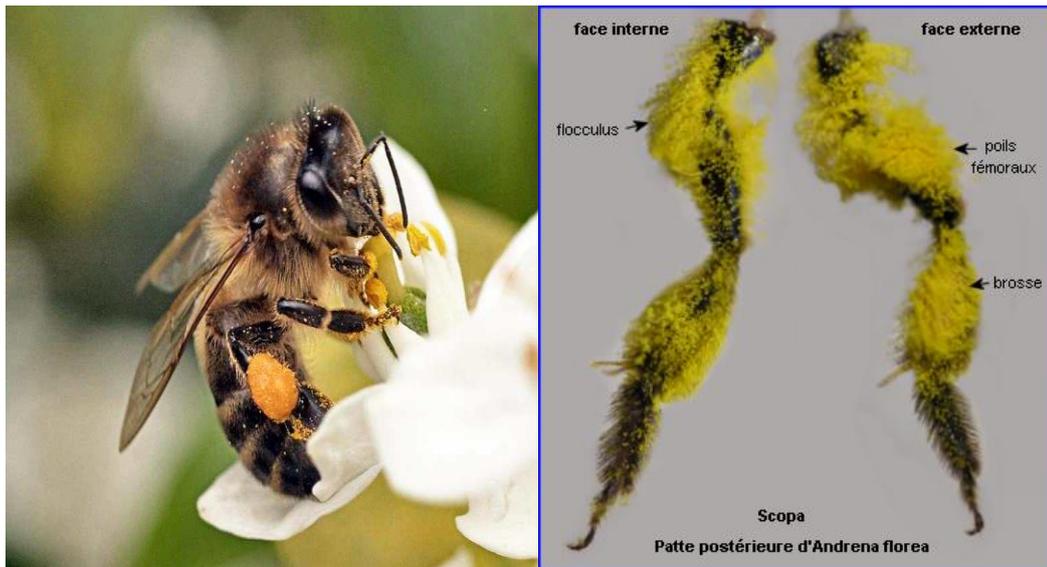


Figure 03 : Récolte du pollen par les abeilles.

b) Par l'homme

Les apiculteurs utilisent des trappes à pollen pour récolter les pelotes fraîchement rapportées par les butineuses. Il existe plusieurs sortes de dispositifs avec des mailles différentes. Ces trappes sont placées devant l'entrée de la ruche.

Pour pénétrer dans la ruche les mailles de la grille doivent être suffisamment larges pour laisser passer les abeilles mais assez étroites pour détacher les pelotes.

Un tiroir placé sous la trappe recueille les pelotes de pollen détachées. Il est surmonté d'un tamis de 3 mm laissant les pelotes tomber à travers mais empêchant les abeilles de venir récupérer leurs butins.

Un tri est ensuite réalisé : les petits lots sont triés à la main. Pour de plus grandes quantités, les débris chitineux (pattes, ailes...) sont attirés par une plaque en plastique électrisée par frottements. Les poussières sont éliminées grâce à un air soufflant ou aspirant, ou au tarare (appareil utilisé en campagne pour le nettoyage des grains)



Figure 04 : Trappe à pollen d'entrée en bois (Jean-Louis, 2017).

3.1. Les facteurs influençant la récolte du pollen d'abeille

La récolte n'est pas constante et dépend de nombreux facteurs :

- Les conditions de vol,
- Les habitudes de butinage de la colonie (choix des fleurs visitées),
- De la santé générale de la ruche,
- Et surtout de l'époque et de la quantité de pollen offerte par les végétaux.
- L'absence de la reine ne constitue pas en soi un stimulus suffisant pour inhiber la récolte de pollen, elle se poursuit mais à un niveau très bas.
- La qualité du pollen récolté est pratiquement proportionnelle à l'étendu du couvain et l'introduction de couvain ouvert ou opercule dans une ruche induit une augmentation de la récolte de pollen par les ouvrières (Louveaux, 1968).

4. Conservation du pollen :

Le pollen frais récolté par les abeilles contient environ 20 à 30 g d'eau par 100g de pollen (Bogdanov, 2004 ; Campos *et al.*, 2008). Cette humidité est un milieu idéal pour le développement des microorganismes tels que les bactéries et les levures. Sa conservation, si l'on veut protéger sa qualité, est une obligation.

Deux techniques de conservation de ce produit sont souvent utilisées, congélation et séchage par différentes techniques. Pour protéger la qualité du pollen, Bogdanov (2004) propose que le produit doit être récolté quotidiennement et immédiatement placé à la congélation pour tuer les insectes.

4.1. Séchage du pollen :

Le séchage est mené généralement à des températures entre 40 à 42°C jusqu'à une humidité ne dépassant pas 6% (Bogdanov, 2004 ; Campos et *al.*, 2008). Pour une meilleure qualité du produit, le séchage se fait, de préférence dans un four électrique, le temps de séchage doit être le plus court possible afin d'éviter les pertes des constituants volatils (Bogdanov, 2004).

Notons que, Campos et *al.* (2008) dans leurs méthode proposée pour la standardisation du pollen, soulignent que la teneur en eau doit être comprise entre 4 et 8 % par 100 g de pollen.

Lorsque le pollen d'abeille présente un niveau élevé d'humidité dans sa composition, un procédé de déshydratation est nécessaire, pour éviter une fermentation rapide et la détérioration (Estevinho et *al.*, 2012). Ce processus est, par conséquent, essentiel dans la conservation de la qualité de pollen.

Selon, Barreto et *al.* (2005), l'évaluation de la durée de conservation du pollen d'abeille séché varie en fonction de la température de stockage et en outre, que l'analyse physique et chimique devrait être complétée par l'analyse organoleptique.

Pour l'analyse sensorielle, le pollen est devenu impropre à la consommation après 240 jours à température ambiante (moyenne annuelle 25,81 ° C), peut devenir amer par la réaction de Maillard. Les échantillons conservés à -12 ° C ont présenté la plus grande durabilité, et plus de 360 jours le pollen est rejeté.

En ce qui concerne l'analyse physique et chimique, les échantillons de pollen sont restés dans les limites fixées par la législation en vigueur, à l'exception de l'acidité libre et les sucres totaux.

4.2. La congélation :

Après avoir met le pollen dans des sacs en matière plastique ou dans des flacons en verre soigneusement fermés, on les place dans un congélateur a -20C° et sous azote où le pollen pourra se conserver parfaitement pendant des mois (Jeanne, 2005).

Ce mode de traitement maintient le pollen dans un état très proche de l'état naturel, et la valeur nutritive demeure excellente, ainsi qu'en témoigne l'absence de variations de la composition azotée (Cherbuliez, 2001). Cependant, ce mode est économiquement très coûteux vu l'exigence du pollen congelé au froid durant toute sa durée d'entreposage.

➤ Effet des processus de conservation sur la composition du pollen

Les effets sur la composition du pollen des procédés de conservation qui sont la congélation, la lyophilisation et le séchage à environ 40 °C ont été évalués par Szczêsna et al., (1995) et d'après Campos et al.(2008). La congélation n'a causé aucun changement important dans la composition chimique du pollen en pelotes.

Ainsi, cette technique devrait être recommandée lorsque la conservation du pollen, pour des raisons nutritionnelles ou thérapeutiques est nécessaire. La lyophilisation a diminué considérablement les teneurs en vitamine C et en provitamine A.

Cependant le séchage à 40 °C a montré l'effet le plus désavantageux. Il a provoqué une diminution considérable dans les teneurs en sucres réducteurs, protéines totales, vitamines C et provitamines A.

5. Conditionnement et stockage :

En raison de l'importance nutritionnelle et fonctionnelle des composants présents dans les aliments, il est nécessaire de contrôler et de superviser les différents processus de développement, afin de maintenir sa qualité nutritifs (Torres et al., 2003).

Le pollen pur doit être conditionné dans des emballages offrant une bonne préservation du produit des différents facteurs externes telle que l'humidité atmosphérique (Campos et al., 2008). Il est recommandé d'utiliser des récipients en verre ou en plastique (Bogdanov, 2004), à condition qu'il soit entreposé dans un endroit frais, sec et sombre.

Le pollen séché à une teneur en humidité comprise entre 4 et 8% maintient sa qualité pendant une période de stockage de deux ans (Campos et al., 2008). Ainsi, une congélation de pollen suivie d'un stockage sous azote pur à -20°C garantit une très bonne qualité biologique jusqu'à 6 mois, et un pollen lyophilisé et conservé sous azote pur à -20°C peut préserver ses activités biologiques élevées (Szczesna et al., 1995).

6. Qualité du pollen récolté par les abeilles :

La qualité du pollen (en pelotes) récolté par les abeilles n'est pas encore standardisée en tant que produit alimentaire dans la plupart des pays du monde, y compris l'Algérie. Ainsi, bien qu'il soit mélangé à certaines conserves alimentaires comme additif aux Etats –Unies, le pollen n'est pas encore normalisé (Almeida-Muradian et *al.*, 2005).

A l'échelle mondiale, il n'y a pas de norme internationale officielle de qualité du pollen récolté par les abeilles (Bogdanov, 2004). Dans certains pays tels que la Bulgarie, le Brésil, la Pologne, l'Argentine et la Suisse, le pollen est standardisé et sa qualité est normalisée (Almeida-Muradian et *al.*, 2005).

Basé sur les résultats d'analyses de la composition chimique du pollen obtenu par des expériences effectuées dans différents pays et sur des publications récentes, Campos et *al.* (2008) proposent des critères et des méthodes comme standards pour évaluer la qualité du pollen récolté par les abeilles.

6.1. Critères de qualité du pollen :

Les critères de qualité sont chimiques, microbiologiques et sensoriels.

➤ Critères chimiques

Comme critères chimiques de qualité, Bogdanov (2004) propose le contenu en protéines, lipides, minéraux, fibres, hydrates de carbones et en vitamines (Tableau I).

Tableau I : Critères de qualité du pollen récolté par l'abeille (Manuel Suisse des Denrées Alimentaires (MSDA, 2004).

Composant	Quantité Min - Max
<u>Principaux Eléments</u>	<u>g/100g</u>
Hydrates de carbone	13-55
Protéines	10-40
Lipides	1-10
Fibres	0,3-20
<u>Composants mineurs</u>	<u>mg/100g</u>
Minéraux	500-3000
Vitamines	20-100
Flavonoïdes	40-3000

➤ Critères microbiologiques et hygiéniques

Du point de vue hygiénique, l'aspect microbiologique est le principal critère de qualité. Il est donc, indispensable de contrôler la qualité microbienne du pollen en particulier l'absence des germes pathogènes et fongiques (Bogdanov, 2004). La charge bactérienne devrait être dans les limites hygiéniques légales.

Les pratiques d'hygiène relatives à la préparation du produit doivent répondre aux règlements sanitaires exigés pour un produit dans l'industrie alimentaire (Campos et *al.*, 2008) comme (le tableau II) l'indique.

Tableau II: Contaminants microbiologiques du pollen récolté par l'abeille (Campos et al., 2008)

Germe	La norme
Salmonella	Absent / 10 g
Staphylococcus aureus	Absent / 1 g
Enterobacteriaceae	Max.100/g
Escherichia coli	Absent/g
Germes aérobies totaux	<100 000/g
Levures et moisissures	< 50 000/g

Du point de vue critères macroscopiques et microscopiques, le pollen ne doit contenir aucune substance étrangère excepté la présence accidentelle de fragments d'abeilles, bois, plante et autre matières inhérentes au processus de récolte du pollen par les abeilles.

➤ Critères sensoriels

La couleur, l'aspect, l'odeur et le goût varient selon l'origine botanique du produit. La couleur change du blanc au noir. Cependant, dans la plupart du temps elle est jaune, orange ou jaune-brune. Le goût du pollen est spécifique : doux, aigre, amer ou épicé. Une mauvaise odeur et goût, fermenté, présence des moisissures ou impuretés visuelles, sont considérés comme critères de défauts.

6.2. Les facteurs influençant la qualité du pollen

Les ennemis principaux demeurent la chaleur et l'humidité qui rendent le pollen dangereux pour la consommation humaine (Prost et le Conte, 2005).

- L'humidité permet le développement de moisissures et des agents de fermentation qui provoquent la détérioration de la qualité nutritive du pollen.
- Les larves des fausses teignes qui se développent dans le tiroir des trappes sont tuées après le séchage. Si les papillons peuvent venir pondre dans les lots de pollen, insuffisamment sec, leurs larves évolueront en se nourrissant des pelotes.
- Le pollen laissé en contact avec l'air libre risque d'être parasité par un acarien. Celui-ci effrite les pelotes et les transforme en une poussière impalpable qui rend le pollen inconsommable.

A titre préventif et curatif contre l'humidité et les acariens, la dessiccation suivie d'une conservation dans des emballages hermétique avec une coupelle contenant un antiparasitaire volatil comme le tétrachlorure ne donne au pollen aucune mauvaise odeur suffisent si l'on est certain que le pollen ne contient ni œuf, ni larve, ni nymphes, ni adultes (Prost et le Conte.2005).

7. Commercialisation du pollen

Le pollen peut être une culture utile à commercialiser. La récolte commerciale du pollen a tendance à avoir de meilleurs résultats en zones sèches: dans les climats humides, il faut éviter que le pollen moisisse. (Fondation Agromisa et CTA, Wageningen, 2005).

Des quantités importantes de pollen sont récoltées en Australie, Argentine, au Brésil, en Chine, Espagne, au Vietnam et dans de nombreux autres pays.

8. Autres domaines du pollen :

Le pollen a été inclus dans quelques préparations cosmétiques avec des réclames des effets rajeunissants et nourrissants pour la peau (Krell, 1996).

Le pollen n'est pas seulement récolté pour nourrir l'homme: il est utilisé pour les programmes de sélection des plantes, pour la pollinisation, il peut être stocké pour nourrir les abeilles en période de pénurie, ou il peut servir à l'étude de réactions allergiques telles que le rhume des foins et de plus en plus fréquemment, pour le suivi de la pollution

environnementale surtout pour mesurer la présence de métaux lourds ou de résidus (Fondation Agromisa et CTA, Wageningen, 2005).

1.Composition biochimique du pollen d'abeille

Introduction

La composition biochimique de grain de pollen dépend, tout comme pour le miel, des spécificités géobotaniques des fleurs visitées, les conditions environnementales (lieux, saisons et années), l'âge et l'état nutritionnel de la plante (lorsque le pollen est en développement) Szczesna *et al.*, (2002).

Après la récolte du pollen par les butineuses, il subit certains ajouts, notamment de la salive, du miel ou du nectar pour constituer les pelotes.

Le pollen est une source de nourriture dont la synthèse est coûteuse pour la plante, mais dont la composition est avantageuse pour de nombreux animaux. C'est un aliment diététique complet et de haute valeur biologique, en renfermant de précieux éléments nutritifs (Caillas, 1957; Nigelle, 1972; Rabiet, 1984; Philippe, 1999).

Les techniques modernes d'analyses permettent d'avoir une idée assez précise de la composition des pollens d'abeilles, tant qualitativement que quantitativement. Les principaux constituants du pollen récolté par l'abeille sont rapportés sur la figure 05.

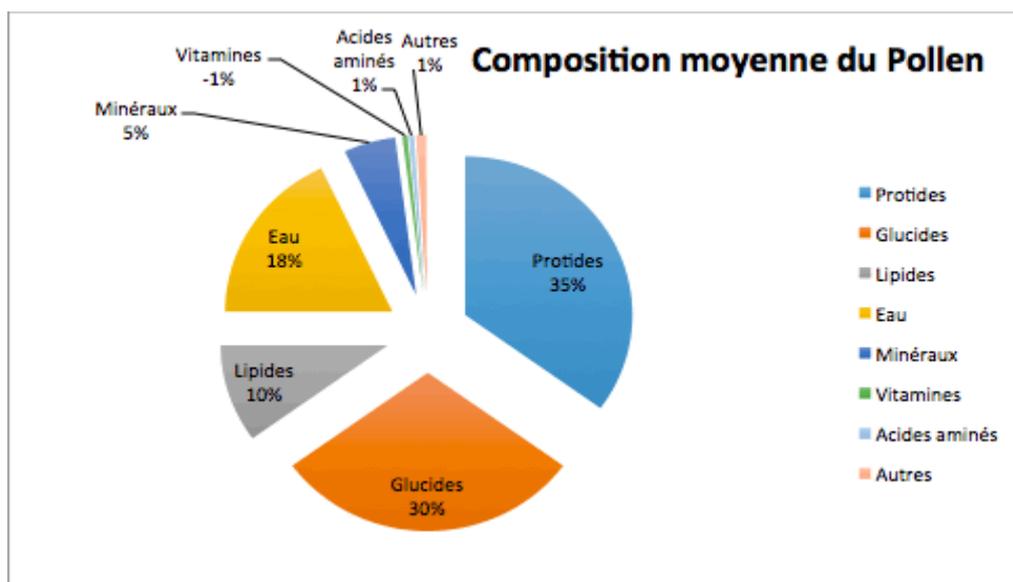


Figure05:Composition moyenne du pollen d'abeille (Berry, 2015).

1.1.L'eau

La teneur en eau du pollen récolté par l'abeille sous forme de pelotes varie en général, entre 20 et 30% (Compos *et al.*, 2008 ; Bogdanov, 2004) ; mais, elle peut atteindre jusqu'à 50%, selon Roulston *et al.*,(2000).

La teneur en eau varie selon l'espèce botanique du pollen (Herbert et *al.*, 1978). Cette humidité élevée est un milieu idéal pour le développement des microorganismes, et une condition favorable pour le déroulement de certains processus biochimiques telle que la germination. Il est, donc, indispensable de conserver le produit (par séchage par exemple) immédiatement après sa récolte afin de préserver sa qualité.

1.2. Les protéines

La teneur en protéines contenues dans le pollen est très variable. Elle varie en fonction de l'espèce végétale (Szczesna, 2006), de la variabilité d'une même espèce végétale et la localisation géographique (Pernal et *al.*, 2000).

Le pollen contient en moyenne 22,7% de protéines, dont 10,4% d'acides aminés essentiels. De plus, dans le pollen, il y a des quantités significatives d'acides nucléiques, en particulier ribonucléique (Bogdanov, 2014).

➤ Acides aminés

Les acides aminés sont indispensables au développement, à l'entretien et au renouvellement des tissus biologiques. La plupart des pollens contiennent les aminoacides les plus communs.

Le pollen contient jusqu'à 23 acides aminés. Les plus dominants sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, la proline, la leucine, la lysine et l'arginine (Szczesna, 2006 ; Gonzalez-Paramas et *al.*, 2006 ; Human et *al.*, 2006). Ces acides aminés se trouvent quasiment dans différents types du pollens (Roulston et *al.*, 2000), avec des teneurs (exprimé en % de la totalité des acides aminés) relativement stable (Szczesna, 2006).

1.3. Les glucides

Provenant du nectar utilisé pour agréger les grains de pollen, le glucose et le fructose sont les glucides majoritairement présents et en quantités équivalentes dans le pollen (Bruneau, 2011).

Il a été montré que la composition en sucre du pollen varie selon : l'origine végétale du pollen, la méthode de collecte et la méthode de stockage. Au total, 14 sucres différents ont été identifiés dans le pollen. Des valeurs de 46 % pour le fructose, de 37 % pour le glucose et de 8% pour le saccharose ont été observées sur différents pollens par Szczesna (2007).

Les autres sucres comme l'arabinose, le ribose, le tréhalose, l'isomaltose, le turanose, le coibiose, le gentiobiose, le melibiose et le melezitose ont des valeurs relatives proches de 1 %.

Le pollen contient également de l'amidon en proportion fortement variable de 0 à 22% du poids sec (Roulston et *al.*, 2000).

1.4. Les lipides

La teneur en lipides dépend de l'origine botanique et du mode de pollinisation de la plante : le pollen des plantes entomophiles (celles qui se font polliniser par l'intermédiaire des insectes) est plus riche que celui des plantes anémogames (pour lesquelles le vent est l'élément pollinisateur) (Gharbi, 2011). Les lipides proviennent de l'exine des grains de pollen : on retrouve beaucoup d'acides gras essentiels (acide oléique, acide linoléique -oméga 6- et acide α -linoléique -oméga 3) (Bogdanov, 2014; Bruneau, 2011).

On retrouve aussi dans les pelotes des phytostérols. Ce sont des voisins du cholestérol animal. Ils sont peu absorbés par les intestins, en effet, ils seraient en compétition avec le cholestérol pour l'absorption. Ils influeraient sur l'excrétion des sels biliaires (Gharbi, 2011).

1.5. Les vitamines

La teneur en vitamines dépend de l'origine florale du pollen. On retrouve des vitamines essentiellement du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12) et de la provitamine A ou β -carotène ainsi que les vitamines D, E et H (Bogdanov, 2014; Bruneau, 2011).

Tableau III : Teneurs moyennes en vitamines du groupe B (Bogdanov, 2014).

Vitamine B ₁	9,2 μ g/g
Vitamine B ₂	18.5 μ g/g
Vitamine B ₃	200 μ g/g
Vitamine B ₅	30à50 μ g/g
Vitamine B ₆	5 μ g/g
Vitamine B ₉	3.6à6.8 μ g/g

La vitamine A est absente mais un de ses précurseurs est présente dans la composition, à savoir la provitamine A ou β -carotène, qui permet un apport en vitamine A au consommateur par transformation dans son intestin. La rutine est présente dans la composition

du pollen, et possède une activité vitaminique P sur les capillaires sanguins, même si elle n'est pas à proprement parler une vitamine.

1.6. Les minéraux

Le potassium est le minéral présent en quantité la plus importante dans les pollens. On retrouve également d'autres minéraux avec des concentrations qui varient en fonction de l'origine florale et de la saison (Bogdanov, 2014).

Les minéraux principaux sont le potassium (600 µg/g), le phosphore (10 à 200 µg/g), le calcium (10 à 150 µg/g), le magnésium (10 à 120 µg/g), le silicium (20 à 100 µg/g), le manganèse (14 µg/g), le soufre (10 µg/g), le chlore (10 µg/g), le fer (0,1 à 3 µg/g) et le cuivre, le zinc, le cobalt avec des teneurs inférieures à 1 µg/g, on retrouve également dans certaines pelotes de pollen du nickel et du plomb.

Le Sélénium est un antioxydant qui entre dans la composition de la glutathion peroxydase qui neutralise les radicaux libres. Par conséquent le sélénium contribue à lutter contre le vieillissement cellulaire, il est un composant du sperme et agit sur la vigueur et la mobilité des spermatozoïdes et c'est également un détoxifiant, protégeant notamment des effets des métaux lourds. L'iode entre dans la production des hormones thyroïdiennes, qui régulent le nombre de métabolisme. C'est aussi un élément antioxydant (Bogdanov, 2014).

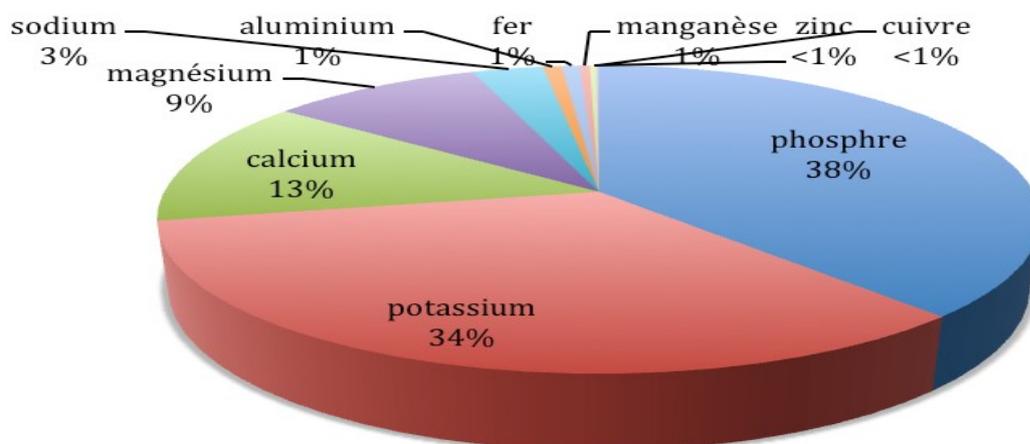


Figure06: Composition minérale du pollen d'abeille (Anonyme, 2014).

1.7. Les enzymes

Les enzymes représentés dans les pelotes de pollen sont très nombreux :

Amylase, Saccharase, Diastase, Phosphatase, Pectase, Cozymase, Pepsine, 14 Oxydoréductases, 333 Hydrolases, 21 Transférase, 11 Lyases, 5 Isomérase, Trypsine, Disphorase, Enzymes du système cytochrome – Déshydrogénases.

Des cofacteurs de ces enzymes qui y sont retrouvés : la biotine, le glutathion, le NAD ainsi que certains nucléosides.

1.8. Les composés volatils responsables des émissions odorantes

Ils regroupent diverses familles chimiques : les alcools, les aldéhydes, les acides, les esters, les cétones...

Autres composés mineurs

- des hormones et précurseurs hormonaux,
- des facteurs et hormones de croissance : hormones gonadotrophiques, œstrogènes et androgènes, - des facteurs antimicrobiens : inhibines et du peroxyde d'hydrogène produit par le glucose
- oxydase qui est issu du miel constitutif des pelotes,
- des ferments lactiques : *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, et des levures issus du nectar et du tube digestif de l'abeille (de 1 à 10 millions de germes par gramme de pollen),
- divers polyphénols.

2. Activité antioxydante**Introduction**

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faible quantité des dérivés réactifs de l'oxygène. Une forte production de ces réactifs entraînent un stress oxydatif qui peut être défini comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces molécules, ce dysfonctionnement est à l'origine de diverses maladies dégénératives tels que le diabète, les maladies cardiovasculaires (Nafia et *al.*, 2005 ; Bandyopadhyay et *al.*, 2008 ; Iacopini et *al.*, 2008).

Les radicaux libres peuvent être piégés ou neutralisés par des substances antioxydants naturellement présentes dans les plantes médicinales, les fruits et les légumes (Schramm et al., 2003).

Etant donné que le pollen est d'origine végétal il est tout à fait normal qu'il contient des substances antioxydantes. Les principaux agents antioxydants du pollen sont les composés phénoliques, les caroténoïdes, la vitamine C et le sélénium.

2.1. Radicaux libres

2.1.1. Définition

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolite toxique : les radicaux libres organiques (Hubert, 1998). Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par transfert de cet électron libre sur une autre molécule.

Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (ROS) (Aurousseau, 2002).

2.1.2. Principaux radicaux libres

➤ L'anion super oxyde ($O^{\cdot -2}$)

La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion super oxyde ($O^{\cdot -2}$) : cet anion intervient comme facteur oxydant de nombreuses réactions.

➤ Le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) :

Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

➤ Le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) : Il est classé par la base de leur structure chimique et de la teneur du mélange en oxygène actif et en peroxyde d'hydrogène.

- **L'oxygène singulet (O_2^{\cdot})** : Forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité(Hadi, 2004).

2.2. Stress oxydatif

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives oxygénées (ROS), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défendre des antioxydants (KoechlinRamonatxo, 2006).

2.3. Classification des antioxydants

Nous distinguons deux sortes d'activité antioxydante selon le niveau de leur action

- Une activité primaire ;
- Une activité préventive (indirecte) ;

Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto catalytique de l'oxydation (Bouhadjra, 2011).

En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexations des ions métalliques ou la réduction d'oxygène...etc(Madhavi et *al.*,2009).

2.3.1. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le BHA, le TBHQ, le THBP, le DTHMP, le PG, l'OG et l'NDGA, sont utilisés dans les cosmétiques et les huiles végétales (Guo et *al.*, 2006).

Le PG et le BHA sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réaction d'initiation et en réduisant la peroxydation des acides gras insaturés (Xiang et *al.*, 2007).

Malgré la puissance de leur activité antioxydante, l'excès de ces antioxydants synthétiques peut être toxique, responsable de mutagenités et peut même présenter un danger pour la santé humaine (Williams, 1993).

2.3.2. Antioxydants naturels

Les antioxydants naturels apportés par l'alimentation comprennent, généralement, de l'ascorbate, des tocophérols, des caroténoïdes et des phénols végétaux bioactifs.

Les effets bénéfiques sur la santé des fruits et légumes sont largement dus aux vitamines antioxydantes présentes par un grand nombre de composés phytochimiques (Cailletet Lacroix, 2007). Les plantes les plus étudiées et utilisées dans ce domaine sont les épices et les herbes aromatiques. La plupart des espèces qui ont une forte activité antioxydante appartiennent à la famille des lamiacées.

Mise à part les composés cités précédemment, le pollen d'abeille est doué également d'un pouvoir antioxydant selon les résultats obtenus par Percie du Sert (2017).

➤ **Les pigments**

Ils sont originaires des végétaux visités par l'abeille. C'est dans le pollen, issus de l'intine, qu'ils sont le plus présents ; celui-ci entrant dans la constitution d'autres produits de la ruche, on les retrouvera également dans ces produits mais dans des proportions plus faibles.

On retrouve de manière constante des flavonoïdes, à hauteur de 0,5 % : apigénine, charysanthemum, isorhamnetine, kaempferol, 8-méthyl-kaempferol, myricétine, quercétine... ils sont à l'origine de la couleur du pollen, les flavones et isoflavones responsables des colorations jaunes et les anthocyanes des colorations plutôt rouges et violettes.

Ce sont des polyphénols aux propriétés diverses : antimicrobiens, anti-inflammatoires, antiallergiques, antiulcéreuses, hépatoprotecteurs, vasculo protecteurs et antihémorragiques. Ils ont un pouvoir antioxydant puissant en piégeant les radicaux libres. A leurs côtés, on retrouve des caroténoïdes comme la lutéine, la zéaxanthine, le β -carotène.

A l'origine de la pigmentation jaune et rouge de certaines parties de plante. Ils jouent un rôle de protection contre la lumière pour la plante révélatrice de leur pouvoir antioxydant. Deux groupes sont représentés :

- Les carotènes : le principal étant le β -carotène, il a une activité pro-vitaminique A, mais d'autres ne partagent pas cette activité, ils sont alors des antioxydants. Plus de 500 caroténoïdes ont été identifiés.
- Les xanthophylles comme la lutéine et la zéaxanthine sont antioxydantes au niveau de la rétine et du cristallin, ils améliorent la coloration de la macula. La lutéine est utilisée pour protéger des UV (Clément, 2011 ; Gharbi, 2011).

2.4. Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro :

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et des systèmes biologiques (Ali et *al.*, 2008; Scherer et Godoy, 2009). Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'un simple électron (Sanchez-Moreno, 2002 ; Huang et *al.*, 2005).

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. Alors que, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Parmi ces techniques, nous citons :

- La méthode d'ORAC (Capacité d'Absorbance du Radical de l'Oxygène) (Cao et *al.*, 1993) ;
- La méthode d'ABTS•+ ou TAEC (Capacité Antioxydante Equivalente de Trolox) (Re et *al.*, 1999) ;
- La méthode FRAP (Capacité Réductrice Ferrique d'Antioxydants) (Benzie&Strain, 1996) ;
- La méthode du radical DPPH (Brand-Williams et *al.*, 1995) ;
- La méthode PCL (photochiminescence) (Popov et *al.*, 1987).

3.2. Propriété antioxydante

La richesse du pollen en antioxydants (provitamine A, vitamines E et C, sélénium, flavonoïdes) lui donne une capacité à éliminer les radicaux libres et le peroxyde d'hydrogène en agissant contre le vieillissement accéléré des cellules. (Gharbi, 2011). Le pollen est l'aliment naturel le plus riche en sélénium, via son rôle de cofacteur pour la glutathion peroxydase, élimine les radicaux libres et le peroxyde d'hydrogène (Apimondi, 2001 ; Nagai et *al.*, 2005).

- Les résultats obtenus par Percie du Sert (2017), sur les différents pollens en utilisant le test ORAC, montrent que l'activité antioxydante du pollen est beaucoup plus élevée que celle des fruits et légumes, 15 ou 20g de pollen sont équivalents 900g de légumes.

- D'après une étude menée sur des rats ayant reçu des radiations de 0,25 Gy et du chlorure de cadmium dans l'eau de boisson, l'application de bêta-carotène et de pollen réduit les effets des radiations. Selon ces mêmes auteurs, cette activité serait liée à l'action antioxydante du pollen (Ananeva et *al.*, 1999).

3. Les propriétés thérapeutiques du pollen

3.1. Propriétés nutritionnelles

La valeur énergétique du pollen est d'environ 400kcal/100g, il peut être administré pendant les périodes à haute demande énergétique comme la gestation ou l'allaitement. Il peut pallier à des carences en acides aminés, vitamines et autres nutriments qu'il contient. (Apimondia 2001 ; Domerego et *al.*, 2009).

- **Aliment protéique**

Le pollen est l'aliment riche en acides aminés, 100g de pollen contiennent les mêmes quantités d'acides aminés présents dans un demi-kilogramme de viande de bœuf. Il renferme tous les acides aminés essentiels puisqu'il provient de plusieurs espèces végétales (Philippe, 1999).

- **Aliment d'équilibre physiologique**

Le pollen a une action régulatrice des fonctions intestinales, augmentation du taux d'hémoglobine chez les anémiés, reprise du poids et d'appétit chez les personnes amaigries, action fortifiante sur le système circulatoire et une action bénéfique sur la fatigue intellectuelle (Philippe, 1999).

- **Aliment complémentaire pour gestation dans le modèle animal**

La complémentation par le pollen chez des rates gestantes (Xie, Wan et Li., 1994), a permis d'observer une augmentation du poids corporel des nouveaux nés ainsi qu'une diminution de la mortalité infantile. Il n'y a pas de malformations osseuses ou viscérales observées chez les fœtus. De plus, les mères ont vu leurs taux d'hémoglobine, protéine totale, fer sérique et albumine augmenter de manière significative.

On observe que le pollen est un très bon complément alimentaire puisqu'il permet une très bonne complémentation en fibres, en vitamines B, C et E, en minéraux et en acides aminés essentiels.

3.3. Propriétés anti-infectieuses

Elle présente des propriétés antimicrobiennes (antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires et antivirales) et probablement immunostimulantes.

- **Activité antibactérienne**

Des études s'accordent pour démontrer l'effet bactériostatique et bactéricide des pollens quel que soit leur origine géobotanique. In-vitro, la croissance de certaines souches est inhibée : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (Apimondia, 2001).

Plusieurs études ont démontré l'activité antimicrobienne du pollen (Pascoal, Rodrigues, Teixeira, Feás et Estevinho, 2014). Les espèces suivantes ont été testées : *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*. Le pollen est efficace sur toutes les espèces testées, mais de manière variable.

- **Action antifongique**

Des extraits alcooliques à 2 et 5% de pollen ont une activité sur *Alternaria alternata* et *Fusarium oxysporium*. L'inhibition est dans ces cas de moins de 50% (Ozcan *et al.*, 2004). A des concentrations minimales allant de 0,002 à 0,25 µg/ml, une solution de pollen possède un effet inhibiteurs contre *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *Trichosporon* spp (Koç *et al.*, 2011).

- **Action immunostimulante**

Wang *et al.* (2005) ont étudié les effets d'une supplémentation en pollen de la ration chez des poussins d'un jour. En supplémentant la ration quotidienne de 1,5% de pollen durant 42 jours, ils ont étudié les effets sur les organes lymphoïdes des volailles par autopsie à 7, 14, 21, 28, 35 et 42 jours. Le poids des thymus, des bourses de Fabricius et des rates étaient significativement augmentés.

La supplémentation en pollen a donc ici amplifié grandement le développement précoce du thymus et de la bourse de Fabricius tout en retardant la dégénérescence de cette dernière et en promouvant la réponse immunitaire de la rate.

3.4. Propriétés anticancéreuses

Dans une cellule cancéreuse, les pigments respiratoires (cytochrome), les catalases, succinates déshydrogénases, diastases, invertases, phosphatases acides et alcalines, ATP-ase ont une activité diminuée. Le pollen y joue un rôle de biocatalyseur et de régulateur de la fonction respiratoire cellulaire. Une étude chinoise a montré que le pollen induisait sur des cerveaux des rats une augmentation de l'activité antioxydante du superoxyde dismutase et de la catalase. Le pollen pourrait donc être considéré comme adjuvant des traitements du cancer (Apimondia, 2001).

- **Propriétés antigénotoxiques**

Une expérience sur *Saccharomyces cerevisiae* (Pascoal, Rodrigues, Teixeira, Feás, et Estevinho, 2014) a permis de mettre en évidence des propriétés anti-génotoxiques du pollen. En effet, *Saccharomyces cerevisiae* dans un premier temps a subi un traitement de l'agent mutagène méthane sulfonate d'éthyle (EMS). En traitant cette levure par un extrait méthanolique de pollen, il s'est avéré que le taux de mutation a considérablement diminué et a permis une survie de 65% des *S. cerevisiae*.

D'après Pinto et *al.* (2010), les pollens issus de *Cystus incanus* et de *Salix alba* en extraits ont un effet anti-génotoxique limitant l'impact de certains anticancéreux comme la mytomycine C, la bléomycine et la vincristine.

Les pollens sont également actifs contre les effets embryotoxiques de certains médicaments comme l'acide acétylsalicylique (Apimondia, 2001).

- **Traitement dans le cancer de la prostate**

Le pouvoir apoptotique retrouvé dans le paragraphe précédent a été étudié contre le cancer de la prostate (Zhang, Habib, Ross, Burger, Lewenstein, Rose et Jatou, 1995). Les extraits chloroformiques de pollen de colza (*Brassicacampestris*) ont une activité cytotoxique *in vitro* sur des cellules prostatiques cancéreuses.

De plus, dans une étude plus ancienne (Wu, Lou et Yi-Jia, 2007), un extrait, cette fois-ci aqueux, permet une inhibition de la croissance des cellules cancéreuses. Il est composé essentiellement d'un acide hydroxamique. La principale propriété de cet acide est d'être chélateur, raison qui pourrait être à l'origine de l'activité anticancéreuse.

Il est possible d'observer l'activité anticancéreuse sur des extraits de polarité différente (chloroforme, eau). Le pollen est donc potentiellement riche en métabolites secondaires de natures variées.

- **Traitement dans le cancer du colon**

Le pollen est actif sur le cancer du côlon humain in vitro (Wang, Diao, Zhang, Liu, Gao, Zhou et Li, 2013) et particulièrement le pollen d'abeille mono floral de rosier (*Rosa rugosa*) qui inhibe la prolifération des cellules cancéreuses du colon. Il s'avère que les polysaccharides sont à l'origine de cette propriété. La fraction de polysaccharides de ce pollen est composée de galactose (21,4%), d'arabinose (47,9%), de rhamnose (3,4%), d'acide galacturonique (12,1%), de glucose (11,6%), de mannose (2,6%) et d'acide glucuronique (1,0%). Cela explique que les polysaccharides fonctionnent en synergie sur les cellules cancéreuses.

3.5. Propriété hépatoprotectrice

Une étude in vivo sur des rats a comparé le pollen de châtaignier avec la silibinine (molécule retrouvée dans le chardon-Marie *Silybummarianum*) (Yildiz, Can, Saral, Yuluğ, Oztürk, Aliyazicioğlu, Canpolat et Kolayli, 2013). Les rats ont subi une intoxication hépatique au tétrachlorométhane. Puis, ils ont eu en prise quotidienne pendant 7 jours un traitement à base de pollen de châtaignier ou de silibinine ou d'un placebo. La surveillance hépatique s'est faite par suivi de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT), de l'alanine amino transférase (ALAT) et d'examen histopathologique.

3.6. Activité anti-inflammatoire

Le pollen inhibe la peroxydation lipidique, les cyclo-oxygénases (Moita, Gil-Izquierdo, Sousa, Ferreres, Silva, Valentão, Domínguez-Perles, Baenas et Andrade, 2013), les lipoxygénases et la hyaluronidase (Pascoal, Rodrigues, Teixeira, Feás et Estevinho, 2014). Il diminue aussi la perméabilité capillaire. Cela a pour conséquence de diminuer le processus inflammatoire.

L'extrait d'éthanol de pollen a montré un effet significatif sur l'inhibition de l'inflammation induite chez le rat. En effet, administrée oralement à 100 ou 300 mg/kg juste avant l'induction de l'inflammation, le pollen inhibe la formation d'œdème et les productions de NO et l'activité COX-2. L'inhibition de la formation des PGE2 et PGI2 et des cytokines inflammatoires est le fait des nombreux flavonoïdes présents dans le pollen (Maruyama et *al.*, 2010).

3.7. Action antiallergique

Paradoxalement, les extraits phénoliques de pollen peuvent montrer des propriétés antiallergiques. Chez la souris de souche BALB/c sensibilisée à l'ovalbumine, des injections d'extraits phénoliques de pollen ont induit une inhibition de l'œdème et une baisse de production d'immunoglobuline (Ig) E et G spécifiques à l'ovalbumine. La migration des leucocytes dans le liquide broncho-alvéolaire s'est vue également inhibée. Le traitement aux extraits a de plus montré une protection partielle au choc anaphylactique chez ces souris (Medeiros et al., 2008).

De même, des administrations orales de pollen réduisent de manière significative l'activation des mastocytes cutanés. In vitro, les extraits de pollen réduisent la dégranulation et la production du TNF- α en inhibant la liaison du fragment constant de l'Ig E à la membrane du mastocyte (Ishikawa et al., 2008).

3.8. Action détoxifiante

Des composés du pollen comme certains acides aminés, enzymes, flavonoïdes, caroténoïdes et la vitamine B1 affectent le complexe enzymatique des COX, responsables de biotransformations majeures dans le foie (Mateescu, 2001). Ces effets sont recherchés dans l'abord thérapeutique des effets toxiques de l'alcool. Le sélénium agit en détoxifiant l'organisme des métaux lourds. Il semblerait d'après Percie Du Sert, que le taux de sélénium augmenterait dans les pollens avec la quantité de métaux lourds. On peut voir cette corrélation comme une protection des gamètes de la part de la plante (Apimondia, 2001).

3.9. Activité IMAO, intérêt comme antidépresseur

Une étude préliminaire menée par des chercheurs turcs (Yildiz, Karahalil, Can, Sahin et Kolayli, 2013) a mis en évidence une activité inhibitrice de la monoamine oxydase (IMAO) de plusieurs produits de la ruche dont le pollen de châtaignier.

Le pollen présente une importante activité IMAO. Cependant, l'étude ne précise pas la sélectivité des MAO. L'étude est une expérimentation in vitro. Le pollen pourrait alors peut-être être conseillé au comptoir sur des terrains à tendance dépressive.

3.10. Autres propriétés thérapeutiques

- **Influence sur la sécrétion hormonale des ovaires**

L'administration régulière de pollen de colza (*Brassicacampestris*) sur des cultures d'ovaires de rates (Kolesarova, Bakova, Capcarova, Galik, Juracek, Simko, Toman et

Sirotkin, 2013) a mis en évidence une modification des sécrétions hormonales. L'hormone de croissance IGF-1 est diminuée tandis que les hormones œstradiol et progestérone sont augmentées. L'augmentation de ces deux marqueurs semblerait alors avoir deux origines différentes dans ce cas.

Cette étude ouvre des pistes dans les domaines de la gynécologie, de la fécondation, de l'ostéoporose, de la cancérologie ... et que le pollen est un régulateur de la fonction ovarienne.

- **Prévention de l'hyperplasie bénigne de la prostate**

L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP), ou adénome de la prostate, est une maladie qui touche de plus en plus les hommes âgés. Les symptômes sont l'envie impérieuse d'uriner, les mictions plus fréquentes, la goutte résiduelle post-mictionnelle ... autant de symptômes qui perturbent la qualité de vie du malade.

Quelques études des années 1990 (Yasumoto, Kawanishi, Tsujino, Tsujita, Nishisaka, Horii, et Kishimoto, 1995) (Lowe et Ku, 1996), ainsi qu'une réalisée en 2008 (Murakami, 2008) ont démontré l'efficacité du pollen dans le traitement de l'HBP. Cette efficacité est dose dépendante. La majorité des études sont faites sur 12 semaines et il est difficile d'évaluer l'amélioration de symptômes qui mettent plusieurs années à se mettre en place. Il s'est avéré que l'intérêt du pollen d'abeille dans l'HBP est dû essentiellement à la présence de cernitine. Le pollen de seigle est le plus adapté dans cette thérapie.

- **Traitement adjuvant de la prostatite chronique**

En plus du traitement de l'HBP, le pollen est une alternative dans le traitement des prostatites chroniques (Dhar, Shoskes, Daniel, 2007) (Wagenlehner, Schneider, Ludwig, Schnitker, Brähler et Weidner, 2009) (Elist, 2006). Les antibiotiques prescrits ne révèlent pas leur entière efficacité. Ainsi, pour augmenter le panel thérapeutique, il est souvent proposé des neuroleptiques ou de la phytothérapie anti-inflammatoire comme le pollen d'abeille (Duclos, Lee et Shoskes, 2007).

- **Dyslipidémie**

La dyslipidémie est une maladie qui est de plus en plus fréquente dans les pays occidentaux. On observe essentiellement une hypercholestérolémie et une

hypertriglycéridémie. Beaucoup prétendent que leurs origines sont dues au régime alimentaire occidental. Ce régime est hypercalorique et il est souvent associé à une baisse de l'activité physique.

Pour contrer ces dyslipidémies, plusieurs thérapies allopathiques, naturopathiques, nutritionnelles ... sont proposées. Le pollen en fait partie. Deux études, russe (Kasianenko, Komisarenko et Dubtsova., 2011) et bulgare (Georgiev, Metka, Huber, Goudev et Manassiev., 2004), ont démontré l'efficacité du pollen dans la diminution du taux de lipides. Les résultats ont montré une baisse du cholestérol total ainsi que du LDL-cholestérol, de 18% et 23% respectivement. En parallèle, le HDL-cholestérol et les triglycérides augmentent légèrement de 12 et 23%. Le pollen participe donc essentiellement à la diminution de la cholestérolémie.

- **Précautions d'emploi du pollen**

D'une manière générale, le pollen d'abeille est très bien toléré. Cependant, il est à éviter chez les allergiques au pollen au sens large.

De plus, un article de la **revue Molecular Nutrition & Food Research** met en garde sur une potentielle toxicité du pollen, ainsi que du miel (Kempf, Reinhard et Beuerle, 2010).

Cette toxicité est due à la présence d'alkaloïdes pyrrolizidiniques métabolites secondaires de certaines espèces végétales telles que la bourrache ou la consoude. Ces alkaloïdes sont reconnus comme mutagènes et tératogènes lors d'une consommation sur le long terme.

I. Les analyses physico-chimiques

Le prélèvement des échantillons

Trois types de pollen ont été prélevés dans un rucher d'abeille installé à une altitude de 500 à 600 m dans la commune de Naciria, Wilaya de Boumerdès. L'échelonnement de la floraison des plantes pollinifères dans le temps, nous a permis de récolter de pollen, provenant des espèces différentes, effectuait d'un triage nous a aider à isoler les trois types de pollen d'abeille à étudier. Le premier types de pollen (cytise trifolium) a été récolté à la fin du mois de Mars jusqu'au début du mois d'Avril ; le deuxième types de pollen (le ciste) est récolté à partir de la mi-Avril jusqu'à la fin Avril, et le dernier types (le sainfoin) a été récolté à partir du début du mois de Mai.

Les différents types de pollen ont fait l'objet d'analyses physico-chimiques et de mesure de l'activité antioxydante.

1. La teneur en eau

1.1. Principe

La teneur en eau du pollen consiste en un étuvage d'un échantillon de 2.5 gramme à 105 °C jusqu'à obtention d'un poids constant. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage (Nabas et *al.*, 2014).

1.2. Méthode

Les capsules vides sont séchées à l'étuve pendant 20 minutes. Un gramme d'échantillon (à 0.01 près) est pesé dans chaque capsule et placé dans l'étuve à 105°C durant 3 heures. Les capsules sont retirées de l'étuve puis placées dans le dessiccateur afin d'être pesées après refroidissement. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante:

$$H(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100$$

Où:

H %: Humidité;

M₁: Masse de la capsule plus la matière fraîche avant étuvage;

M₂: Masse de l'ensemble après étuvage;

P: Masse de la prise d'essais.

La matière sèche est obtenue selon la formule suivante :

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - H$$

2. Le pH

La détermination du pH a été faite selon la méthode NF V 05-108 (1970) décrite par AFNOR (1982).

2.1. Principe

Le principe de cette méthode est basé sur une détermination en unité de pH de la différence de potentiel existante entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse du pollen broyé.

2.2. Méthode

Une quantité du pollen est broyée dans un mortier. Un gramme de broyat (à 0.01 près) est mis dans un bécher de 200 ml auquel est ajouté 100 ml d'eau distillée, suivi d'une agitation pendant une minute. La solution est laissée au repos pendant 15 min, puis agitée de nouveau quelques instants, et la mesure de pH est prise.

3. La teneur en cendres

La teneur en cendres est déterminée selon la méthode AOAC (2000) utilisée par Human et *al.* (2006).

3.1. Principe

Le principe de la méthode est basé sur la calcination du pollen à 600 °C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

3.2. Méthode

1 g de pollen, mis dans une capsule en porcelaine, est placé dans un four à moufle réglé à $600 \pm 15^\circ\text{C}$ pendant 2 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre. La capsule est ensuite retirée du four et refroidie dans un dessiccateur, puis pesée.

Le taux de matière organique (MO) du produit est calculé selon la formule suivante:

$$MO(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100$$

Où :

M_1 : Masse de la capsule plus la prise d'essai;

M_2 : Masse de la capsule plus cendres

P : Masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (C_n) est, alors, déterminée par la formule suivante:

$$C_n (\%) = 100 - MO (\%)$$

4. L'acidité titrable

L'acidité titrable est déterminée selon la méthode NF V 05-101 (1974), décrite par AFNOR (1982) destinée à la détermination de l'acidité titrable des produits d'origines végétales, c'est le cas du pollen.

4.1. Le principe

Le principe de cette méthode se base sur le titrage de l'acidité d'une solution aqueuse avec une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré.

4.2. La méthode

Un échantillon de $2,5 \pm 0,01$ g de pollen bien broyé est placé dans une fiole conique avec 20 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, et mélangé jusqu'à obtention d'un liquide homogène. La fiole conique est adaptée à un réfrigérant à reflux afin de chauffer le contenu au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, le contenu de la fiole conique est transvasé quantitativement dans une fiole jaugée de 25 ml et complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie. Ensuite, il est bien mélangé puis filtré. 10 ml de filtrat, versés dans un bêcher, sont titrés avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N en présence 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'acidité titrable est exprimée en milléquivalents de NaOH par 100 g de pollen, elle est déterminée selon la formule suivante :

$$A = (25 \times V_1 \times 100) / (M \times 10 \times V_0)$$

Soit :

M : Masse, en grammes de pollen prélevé ;

V_0 : Volume en millilitres de la prise d'essai (10 ml) ;

V_1 : Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N utilisé.

5. Extraction et dosage des polyphénols de pollen

5.1. Extraction des polyphénols

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le principe consiste en ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion. (Ribereau-Gayon., 1968, Vercautern et *al.*, 1996 ; Owen et Johns., 1999). Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact (Lapornik et *al.*, 2004).

- **Préparation de l'extrait Méthanolique du pollen (EMP) :**

La préparation de l'EMP est réalisée selon la procédure décrite par (Moreira et *al.*, 2008). 5g de pollen d'abeille est mélangé avec 10ml de méthanol(MeOH). La solution est laissée macérer pendant 72 h à température ambiante, puis filtrée sur papier filtre Whatman N°4, et le résidu solide est ré-extrait à nouveau. Les deux extraits méthanoliques sont réunis.

5.2. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux du pollen est estimée selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrit par (Moreira et *al.*, 2008) .

5.2.1. Principe

Les composés phénoliques du pollen sont oxydés par le réactif du Folin-ciocalteu en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la coloration produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits (Boizot et Charpentier., 2006), et elle possède une absorption maximum aux environs de 700 nm (Ribereau-Gayon., 1972).

5.2.2. Méthode

Dans un tube à essai, 0,5ml d'extrait méthanolique du pollen est dilué dans 9 ml de méthanol auquel est ajouté 0,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) et 0,5ml de Na_2CO_3 à 20% .le tube est laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 1 heure.

- **Préparation de la gamme étalon**

La quantification des polyphénols est obtenue en se référant à une courbe d'étalonnage linéaire. Cette courbe est établie par l'usage des solutions de concentrations croissantes d'acide gallique (0,02 à 0,13 mg/ml). En effet, une solution mère d'acide gallique a été préparée en dissolvant 0,13g d'acide gallique dans 100 ml de méthanol, et à partir de cette solution différentes dilutions (D1, D2, D3, D4, D5, D6) sont réalisées, comme le montre le tableau ci-dessous. La lecture de l'absorbance est réalisée à 700 nm contre un essai à blanc.

Tableau IV : Préparation des dilutions de l'acide gallique (GA) pour la réalisation de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

	SM	D1	D2	D3	D4	D5	D6
[AG] g/ml	0.13	0.1	0.08	0.06	0.04	0.02	00
V(SM) ml		3.8	3	2.3	1.5	0.8	00
(Méthanol) ml		1.2	2	2.7	3.5	4.2	5
V total ml		5	5	5	5	5	5

La courbe d'étalonnage

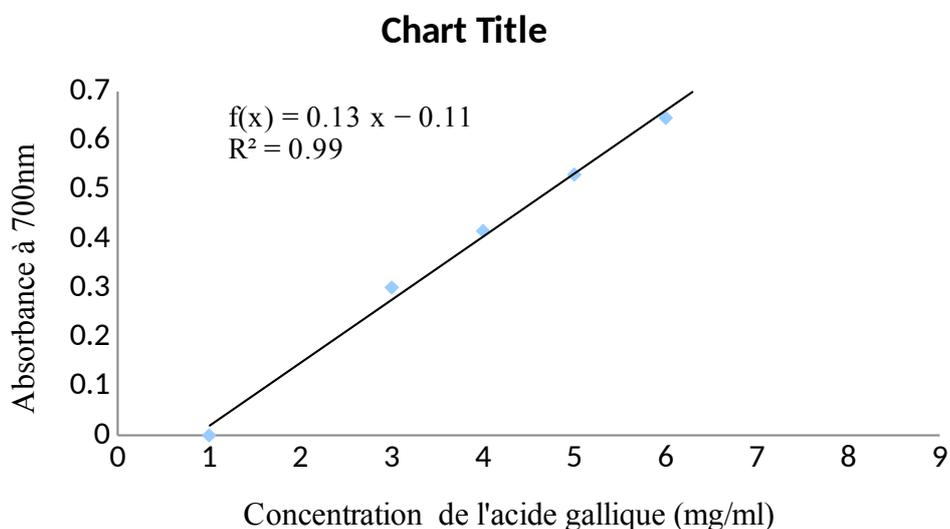


Figure 07 : La courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (en mg équivalent acide gallique/ml).

6. Pouvoir réducteur sur le ferricyanure

6.1. Principe

La puissance réductrice des produits de la ruche est déterminée par la méthode décrite par Saha et *al.* (2008).

6.2. Méthode

Un volume de 1ml de l'extrait Méthanolique du pollen (EMP) est mélangé avec 2,5ml du tampon phosphate (0,2N, pH = 6,6) ; ensuite 2,5ml de ferricyanure de potassium à 1% y sont ajoutés. Ce mélange est incubé au bain marie à 50°C pendant 20min. 2,5ml d'acide trichloracétique (10%) sont ensuite ajoutés au mélange. 1 ml est prélevé de ce mélange et auquel es additionné d'abord 1 m d'eau distillée et puis 0,2 ml de chlorure ferrique (FeCl₃) à (0,1%). L'absorbance est lue à 700 nm, et les résultats sont exprimés en mg équivalents acide gallique par 100g d'échantillons (mg EAG/100g), en utilisant la courbe d'étalonnage d'acide gallique.

- **La courbe d'étalon :**

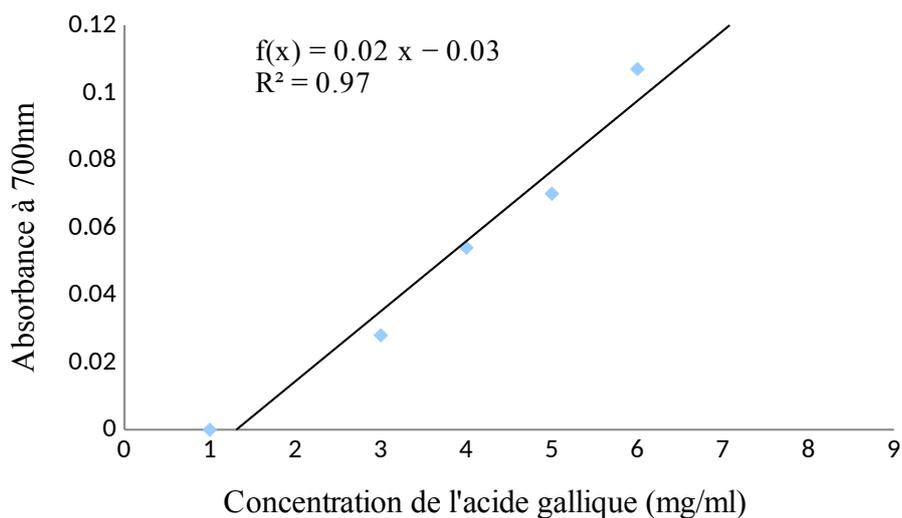


Figure 08 : la courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur (en mg équivalent acide gallique/ml).

7. Activité antioxydante totale (Test au phosphomolybdate).

7.1. Principe

La capacité antioxydante totale des produits de la ruche a été évaluée par la méthode de Ramalakshmi et *al.* (2008).

7.2. Méthode

0,1g de pollen frais, de chaque type, a été dissoute dans 5 ml d'eau distillée pour former un extrait aqueux. Ensuite, une série de quatre tubes à vis, dans chacun on met 1 ml de l'extrait aqueux, auquel on ajoute successivement 1, 2, 3, 4 ml d'eau distillée, pour préparer des solutions de pollen de concentrations décroissantes. On prélève par la suite 0,1 ml de la solution de chaque tube est le versé dans une autre série de tubes, auxquels on ajoute par la suite 1ml de mélange des réactif suivants : 0,6 M d'acide sulfurique ; 28 mM phosphate de sodium ; 4 mM de molybdate d'ammonium. Le mélange obtenu est incubé dans un bain marie à 95°C, pendant 90 min. Après refroidissement une lecture a été effectuée à 695 nm dans un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage d'acide ascorbique a été préparée : 0.1 g d'acide ascorbique est dissous dans 10 ml d'eau distillée pour préparer la solution mère. A partir de cette solution, une série de dilution de concentrations croissantes ont été préparées pour élaborer une courbe d'étalonnage.

Tableau V: Préparation des dilutions de l'acide ascorbique pour la réalisation de la courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante

	SM	D1	D2	D3	D4	D5
[AC. Ascorbique] g/ml	0.1	0.08	0.06	0.04	0.02	0
V(SM) ml		4	3	2	1	0
V(ED) ml		1	2	4	5	5
V total ml		5	5	5	5	5

- **La courbe d'étalon :**

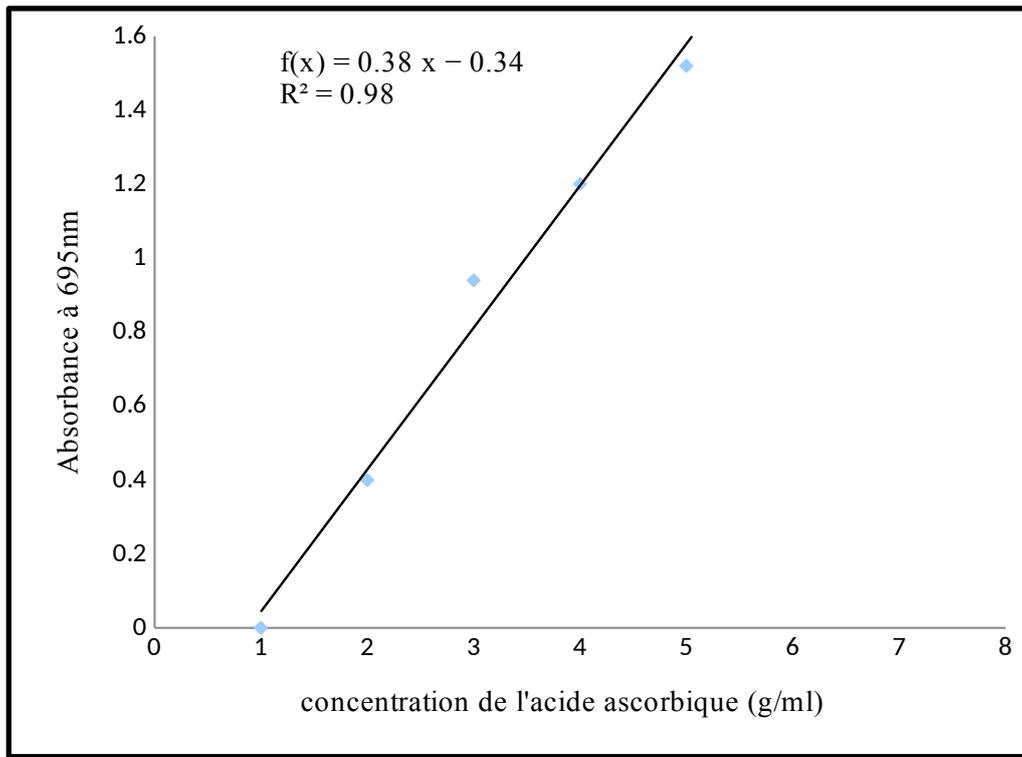


Figure 09 : la courbe d'étalonnage pour la mesure de l'activité antioxydante des différents types de pollen (en équivalent g d'acide ascorbique/ml).

8. Extraction et dosage des lipides

L'extraction dans le chloroforme-méthanol est bien connue (Folch, Lees et Stanly., 1957). Cette méthode a été choisie en raison de ses douces conditions de travail (ni chaleur ni pression élevées), ce qui évite d'éventuelles modifications de la matière grasse extraite. De nombreux auteurs ont également opté pour cette méthode (Tavella et *al.*, 2000 ; Martin et *al.*, 2005)

8.1. Principe

Elle combine la capacité de la pénétration de l'alcool dans les tissus avec le pouvoir dissolvant du chloroforme pour les lipides. Cette méthode d'extraction est préférable quand l'extrait est utilisé pour doser les acides gras. La méthode est efficace pour les aliments complexes et fait partie des méthodes officielles AOAC (Greenfield et *al.*, 2007)

8.2. Méthode

Un échantillon de pollen de 25g est dissous dans 75ml du mélange chloroforme / méthanol (2 :1 v/v) dans un Erlenmeyer de 250 ml, le tout est ensuite agité pendant 45 min au

moyen d'un agitateur magnétique. A près filtration (sur papier filtre), la phase solide est ré-extraite 1 ou 2 fois avec le même volume du solvant. Ensuite les différents extraits sont réunis et placés dans une ampoule à décanter. A l'extrait global est additionné 35 ml d'une solution saturée de Na Cl, suivi d'une agitation. Laisser au repos le mélange pendant quelques minutes, deux phases bien distinctes apparaissent. La phase chloroformique est récupérée et filtrée, A laquelle est ajoutée ensuite du sulfate de sodium anhydre afin d'enlever les traces d'eau, éventuellement présente, suivi à nouveau d'une filtration. La phase chloroformique ainsi obtenue est transvasée dans un ballon à col rodé pesé au préalable. Peser à nouveau le ballon plus la phase chloroformique. Le solvant chloroformique est évaporé dans un rotavapeur à 40 °C, et le ballon contenant la matière grasse extraite du pollen est pesé, et la teneur en matière grasse est enfin déduite par la formule suivante :

$$\text{MG}(\%) = \frac{P_2 - P_1}{P_3} \times 100$$

Soit :

MG (%) : pourcentage de la matière grasse ;

P₁ : poids du ballon rodé vide (g) ;

P₂ : poids du ballon rodé avec l'huile extraite (g) ;

P₃ : Masse de la prise d'essai (g).

8.3. La composition en acide gras des lipides extraits

La composition en acides gras des différents extraits lipidiques du pollen est déterminée par une analyse chromatographique en phase gazeuse après méthylation des acides gras.

8.3.1. Principe

La CPG est une technique qui permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les

autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules.

8.3.2. Méthode

- **Préparation des esters méthanoïques**

0,2 g de l'huile est dissous dans 3 ml d'hexane, auquel est additionné 0,4 ml de la solution d'hydroxyde de potassium méthanoïque 2N. Agiter pendant 30 secondes, puis injecter dans l'appareil (CPG).

- **Injection des esters méthyliques dans la CPG :**

Un volume de 0,5 µl des esters méthylique est injecté dans la CPG de marque Chrompack CP 9002 équipée d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un injecteur. Ce système utilise une colonne capillaire en silice DB 23 avec l'Azote comme gaz vecteur à un débit de 0,5 cm/mn. La température de la colonne est maintenue à 100°C, alors que la température de l'injecteur et du détecteur sont tous deux à 250°C. La calibration est faite à l'aide d'un étalon interne de palmitate d'esters méthyliques, et le pourcentage de chaque acide gras est obtenu à l'aide d'un intégrateur.

9. Analyses statistiques

Nous avons réalisé une analyse de la variance à un seul facteur (types de pollen) au moyen du logiciel STAT BOX pour Windows XP 2007.

II. La composition chimique des différents échantillons de pollen

1. La teneur en eau

La teneur en eau est un paramètre important pour la conservation des aliments. En effet, la teneur en eau dans un aliment est fortement liée à son activité de l'eau. Ce paramètre détermine l'intensité des réactions chimiques et enzymatique ainsi que la vitesse de développement des micro-organismes. Le séchage et/ou la congélation de pollen, permettant de réduire de l'activité de l'eau, ce sont deux principales techniques de conservation de ce complément alimentaire.

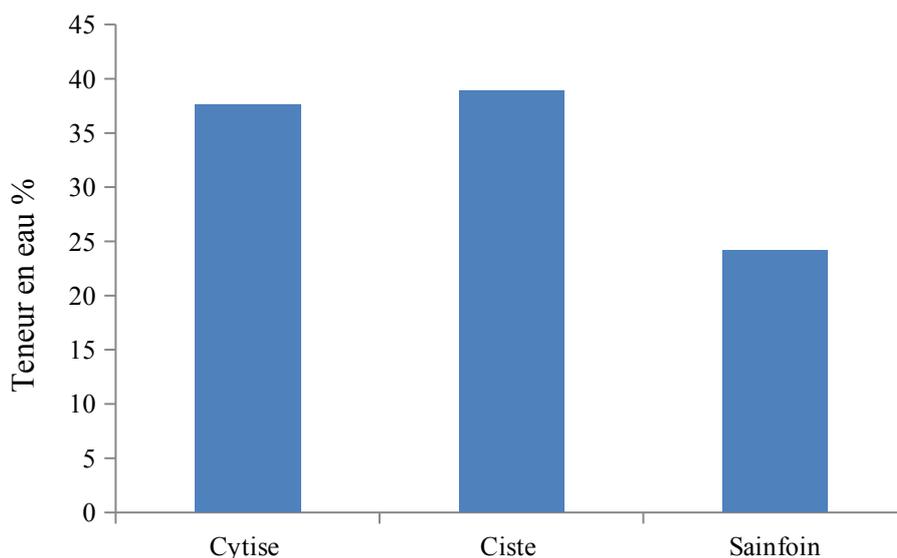


Figure 10: Teneur en eau (%) des différents types de pollen.

La figure 10 illustre les résultats de la teneur en eau des différents échantillons de pollen analysés. Le taux d'humidité le plus élevé a été enregistré dans le pollen de ciste (38,93%), suivi par le cytise (37,60%) et la valeur d'humidité la plus faible (24,17%) a été trouvée dans le pollen de sainfoin. L'analyse de la variance n'a pas révélé de différences significatives ($p = 0,21$). Selon Prost et Le Conte (2005) le pollen frais contient entre 10 à 40% d'eau. Par ailleurs, Roulston et *al* (2000) rapporte que la teneur en eau de pollen peut atteindre 50%.

Le taux d'humidité nettement inférieur enregistré dans le pollen de sainfoin comparativement aux deux autres types peut s'expliquer par l'époque de récolte tardive de sainfoin. En effet, la récolte du pollen de sainfoin a été faite au mois de Mai qui est caractérisée par un climat relativement chaud et sec. Cependant, l'époque de récolte de deux autres types de pollen, Mars/Avril, est caractérisée par un climat froid et humide.

Par ailleurs, le taux d'humidité de pollen est un facteur favorisant le développement des micro-organismes, il est donc nécessaire de procéder à sa stabilisation biologique soit par un séchage, pour ramené son humidité à un taux inférieur à 10%, soit par congélation à -18°C .

2. Mesure de pH

Le pH permet de mesurer l'acidité ou la basicité d'une solution ou d'un aliment. Le pH est un indicateur de fraîcheur d'une denrée alimentaire d'origine végétale ou animale. En effet, chaque aliment frais a son pH spécifique. Tout écartement ou éloignement de ce pH peut nous renseigner sur une éventuelle altération microbienne. Le pH est généralement considéré comme étant un critère qui nous renseigne sur l'état de fraîcheur d'une denrée alimentaire.

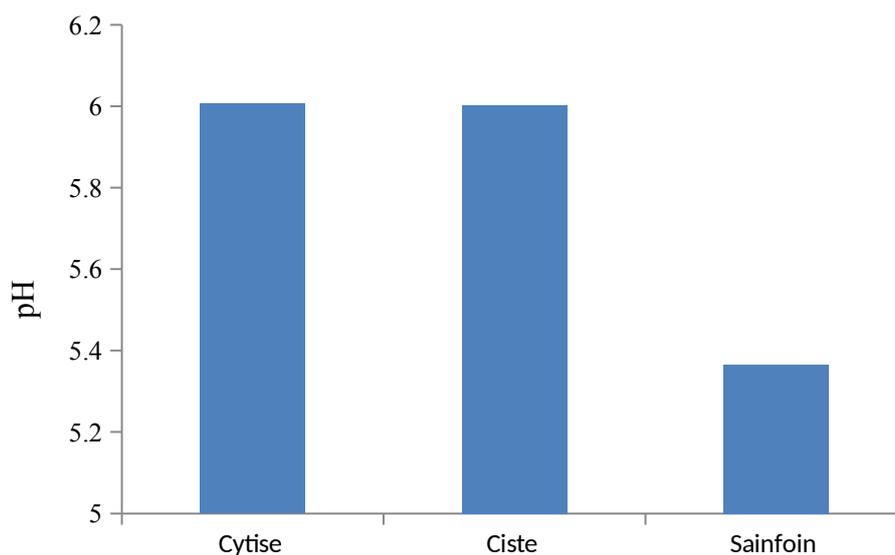


Figure 11 : Les valeurs du pH des différents types de pollen.

Les valeurs de pH des différents types de pollen varient de 5,36, dans le pollen de sainfoin, à 6,0 dans les deux autres pollens. L'analyse **statistique** n'a pas révélé des différences significatives ($p = 0,97$). En se référant à la bibliographie, les résultats obtenus dans cette étude sont conformes aux normes brésiliennes dont la fourchette varie de 4,0 à 6,0, et corroborent aussi les résultats rapportés par plusieurs auteurs Herbert et *al.*, 1978 ; Coronel et *al.*, 2004 ; Estevinhoet *al.*, 2012 ; Marchini et *al.*, 2006 ; Bastos et *al.*, 2003). Selon Louveaux (1968), la variation des valeurs de pH des différents types de pollen est due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille pendant la confection des pelotes de pollen.

3. Taux de cendres

Les cendres totales de la matière végétale sont les restes des corps inorganiques obtenus après la calcination, jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le taux de cendres représente la fraction minérale de l'aliment. Dans le cas du pollen, la fraction minérale est constituée de magnésium, de potassium, de sélénium et de l'iode qui sont des oxydants rares, qui entre dans la composition de la glutathion peroxydase qui neutralise les radicaux libres (Compos et *al.*, 2008).

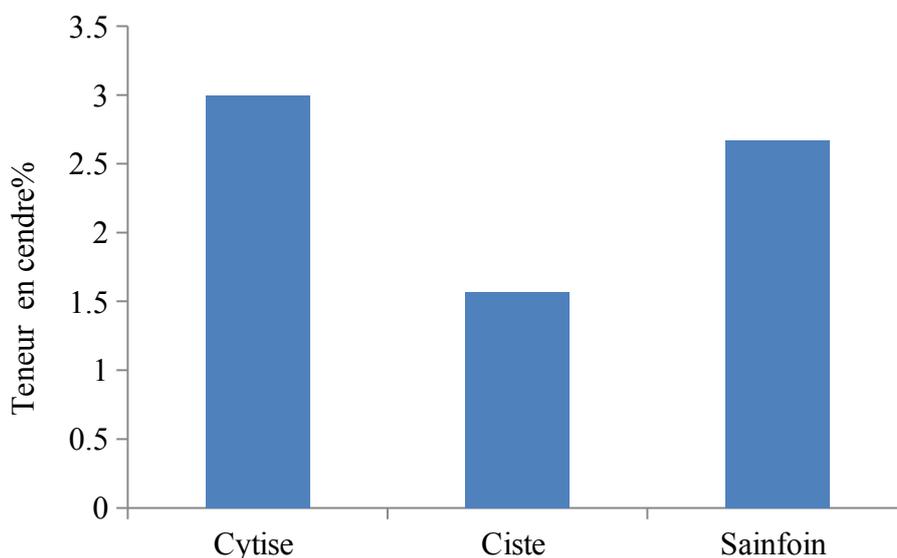


Figure 12: Les teneurs en cendre de différents types de pollen.

Le taux de cendre des différents types de pollen varie de 1,62% à 2,93%. Le taux le plus élevé a été enregistré dans le pollen cytise (2,93%) suivi par le pollen de sainfoin (2,66%) et enfin par le pollen de ciste (1,62%). L'analyse de la variance n'a pas révélé de différence significative.

Les taux de cendres enregistrés dans les différents types de pollens étudiés corroborent à ceux trouvés par plusieurs auteurs Bastos et *al.* (2003) (1,5 à 4,8%), par Barreto et *al.* (2005) (1,62 à 3,97%) et de Carpes (2008) (de 1,90 à 3,91%).

La teneur en cendres est influencée par le type de sol, l'origine géographique, les espèces florales et la capacité de la plante à accumuler les minéraux dans le pollen (SerraBonvehí et *al.*, 1986). Et la présence d'impuretés minérales peut augmenter la teneur en cendres (BaldiCoronel et *al.*, 2004), ce qui fait de cette analyse un indice de qualité important pour le pollen (OrzáezVillanueva et *al.*, 2002).

4. L'acidité triturable

L'acidité libre du pollen est probablement due à l'action de la flore lactique naturelle trouvée dans le pollen frais, et qui est responsable de l'hydrolyse des composés organique, particulièrement les glucides, pour libérer des acides organiques (Gilam, 1990).

La figure 13 montre les résultats de l'acidité titrable enregistrés sur les différents échantillons de pollen.

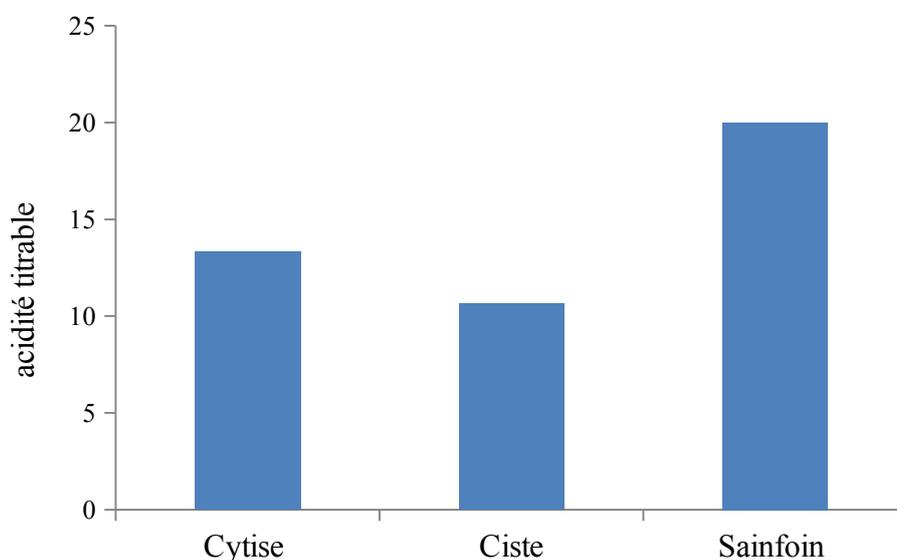


Figure 13 : Les valeurs de l'acidité titrable des différents types de pollen($p = 0,02$).

Les taux d'acidité enregistrés varient de 10,6 à 20 (meq de NaOH/100g de pollen). La valeur la plus élevée a été obtenue dans le pollen de sainfoin (20meq de NaOH/100g de pollen) suivi par le cytise (13,3meq de NaOH/100g de pollen) et enfin par un taux de 10,6 meq de NaOH/100g de pollen de ciste. L'analyse statistique a révélé une différence significative ($p = 0,02$). Selon Barbara et *al* (2015), l'acidité totale du pollen peut atteindre la valeur de 30meq de NaOH/100g de pollen.

Les métabolismes des substances chimiques et biochimiques constituant le pollen peuvent produire des acides organiques telle que la fermentation lactique produisant ainsi l'acide lactique (Gillian, 1989).

5. Teneur en polyphénols totaux

Au cours de ces dernières années, de nombreux travaux ont été publiés sur les propriétés thérapeutiques des polyphénols telles que les effets anti-inflammatoires (Santangelo et *al.*, 2007 ; Shen et *al.*, 2012 Calabriso et *al.*, 2015), anti-athérosclérotiques (Calabriso et *al.*, 2015 ;

Huseini et *al.*, 2015), anti-hémolytiques (Khalili et *al.*, 2014), anti-microbiens (Li et *al.*, 2014) et anti-parasitiques (Calixto Junior et *al.*, 2015).

Mesurer la teneur en polyphénols du pollen d'abeilles est très important dans notre analyse car ces composés sont connus pour leur capacité antioxydante (Dragovic-Uzelac et *al.*, 2009 ; Gawron-Gzella et *al.*, 2012).

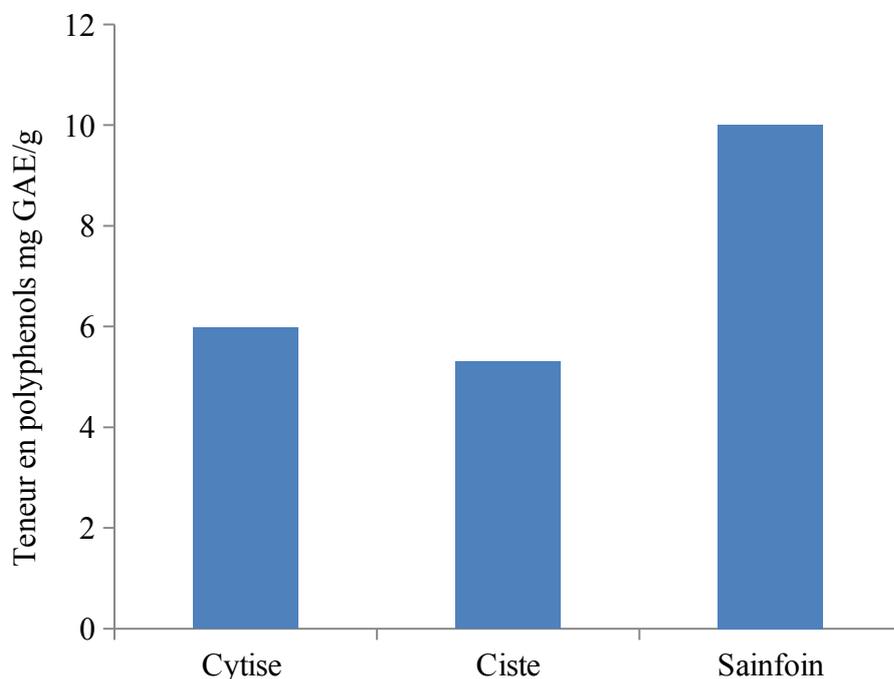


Figure 14: Teneur en polyphénols totaux des différents types de pollen.

Les différents types de pollens renferment des teneurs en polyphénols qui varient de 5,3 à 10,07 mg GAE/g de pollen. La teneur la plus élevée a été enregistrée dans le pollen de sainfoin, avec une teneur moyenne de 10,07 mg/g qui est environ le double de ce qui est enregistré dans les deux autres types de pollen. Toutefois, l'analyse statistique n'a mis en évidence aucune différence significative.

Les résultats obtenus dans cette étude se situent dans la même fourchette que celle trouvée par Solange et *al.*, 2007 et qui variait de 3,6 à 10,9 mg GAE / g, mais ils sont inférieurs aux résultats obtenus par Percie du Sert (2009) dont les valeurs varient de 10,33 à 20,86 mg/g. Par ailleurs, et d'après Karkaret *al.*, (2018), les teneurs totales en composés phénoliques du pollen d'abeille varient entre 4,12 à 43,48 mg GAE / g de pollen. Les différences enregistrées entre les différents auteurs peuvent être due d'une part au types de pollen et d'autre part aux méthodes d'analyse utilisées. En effet, et selon plusieurs auteurs (Iapornik et *al.*, 2004 ; Carpes et *al.*, 2007 ; Leja et *al.*, 2007 ; Stanciu, 2008) les teneurs en composés phénoliques varient selon l'origine

géobotanique du pollen, comme elles varient en fonction du solvant d'extraction et le temps de contact. De plus, les facteurs environnementaux ont une influence importante sur ces différences dans la composition phénolique du pollen d'abeille (Karkar et al., 2018).

6. Pouvoir réducteur

Beaucoup d'études ont indiqué la présence d'une relation directe entre les activités antioxydants et la puissance réductrice (Bentabet et al., 2014). Cette analyse a pour but d'évaluer la puissance réductrice des antioxydants des extraits via la réduction du fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}) (Koula et al., 2014).

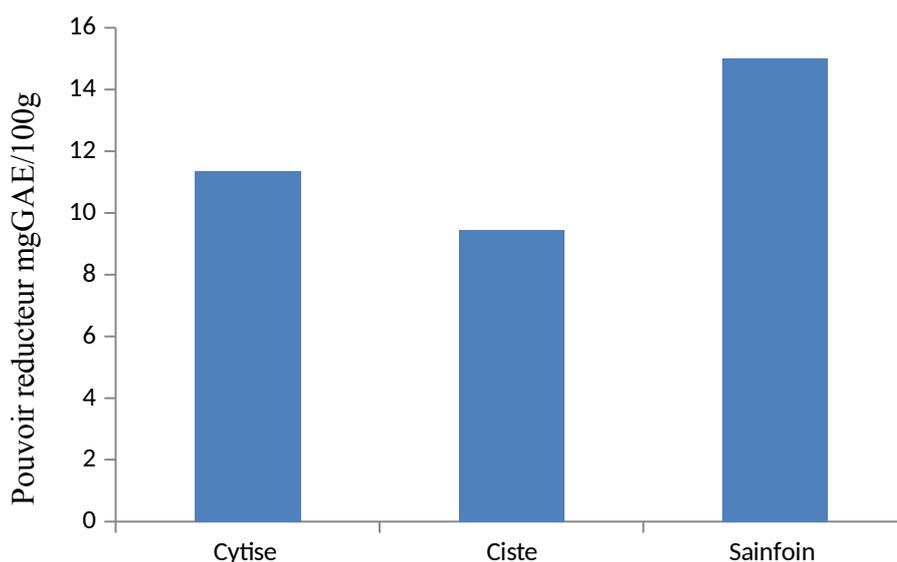


Figure 15: Le pouvoir réducteur des différents types de pollen.

Le pouvoir réducteur des trois types de pollen d'abeille diffère d'un type à un autre comme l'indique la figure 15. Il variait, en effet, de 9,45 à 15 mg EAG/100g. L'activité réductrice la plus élevée est marquée dans le pollen de sainfoin avec une valeur de 15 mg EAG/100g de pollen suivis par le cytise 11,35 mg EAG/100g et enfin le ciste avec 9,45 mg EAG/100g. Toutefois, l'analyse de la variance n'a pas révélé de différence significative.

7. Activité antioxydante

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante car les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et ils peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, il n'existe pas de test de référence in vitro pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon (Amic et al., 2003).

Les résultats de l'activité antioxydante mesurée sur les trois types de pollen sont illustrés sur la figure 16

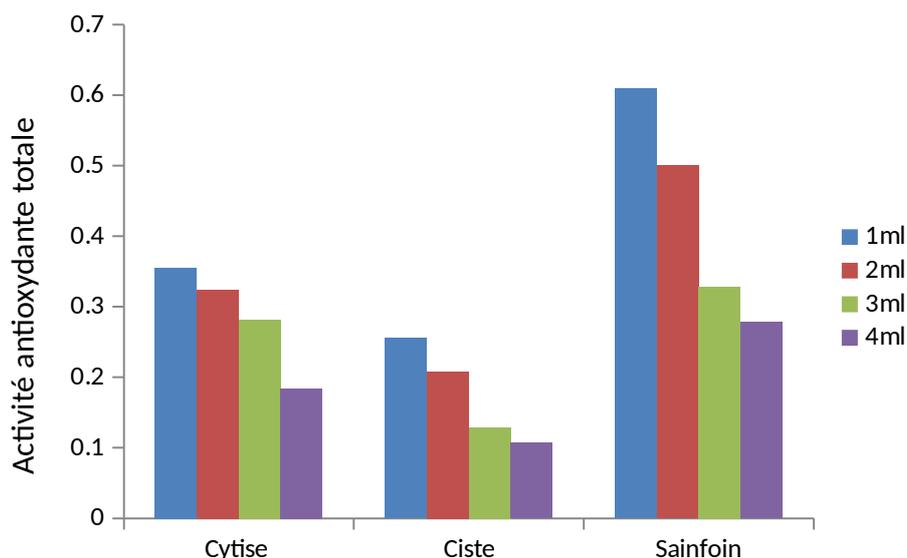


Figure 16: Les valeurs de l'activité antioxydante des différents types de pollen.

Il apparait dans cette figure que l'activité antioxydante, en équivalent mg d'acide ascorbique/g, est différentes d'un type de pollen à un autre. Les valeurs enregistrées varient en effet de 0,107 à 0,609 mg acide ascorbique /g. Nos résultats sont très proches de ceux trouvés par Rahmani et hamani(2017) avec des valeurs de 0,101 à 0,620mg acide ascorbique/g de pollen. Par ailleurs, les valeurs de l'activité antioxydante les plus élevées sont enregistrées dans le pollen de sainfoin, c'est dans ce même type de pollen que nous avons enregistré des teneurs les plus élevées en composés phénoliques et des valeurs les plus importantes du pouvoir réducteur.

Par ailleurs, La variation de l'activité antioxydante des échantillons est attribuée aux origines botaniques, à la présence d'agents antioxydants tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques (Al-Mamary et *al.*, 2002 ;Kucuk et *al.*,2007).

Bretta et *al.*,(2005) et Blasa et *al.*,(2007) ont montré que cette variation est due aussi à la qualité et à la quantité des composés phénoliques responsables de cette activité. Cette dernière peut être affectée par de nombreux facteurs, la structure des composés phénoliques et en particulier les degrés et la position des groupement hydroxyles sur le noyau aromatique de la molécule (Balasandram et *al.*,2005 ;Scherer et Gody,2009).

8. La teneur en lipides

Les lipides font partie des constituants majeurs des denrées alimentaires. Les lipides sont caractérisés par leur degré d'insaturation. Cette propriété contribue fortement aux propriétés nutritionnelles des aliments mais aussi détermine leur sensibilité à l'oxydation donc à leur conservation. Pour les abeilles, les lipides sont des sources importantes d'énergie, ils sont employés pour la synthèse de la graisse et du glycogène de réserve et contribuent à la production de la gelée royale (Human et *al.*, 2006). Les abeilles préfèrent les pollens les plus riches en lipides (Singh et *al.*, 1999).

La figure 17 illustre les résultats des teneurs en lipides enregistrés dans les différents types de pollen étudiés.

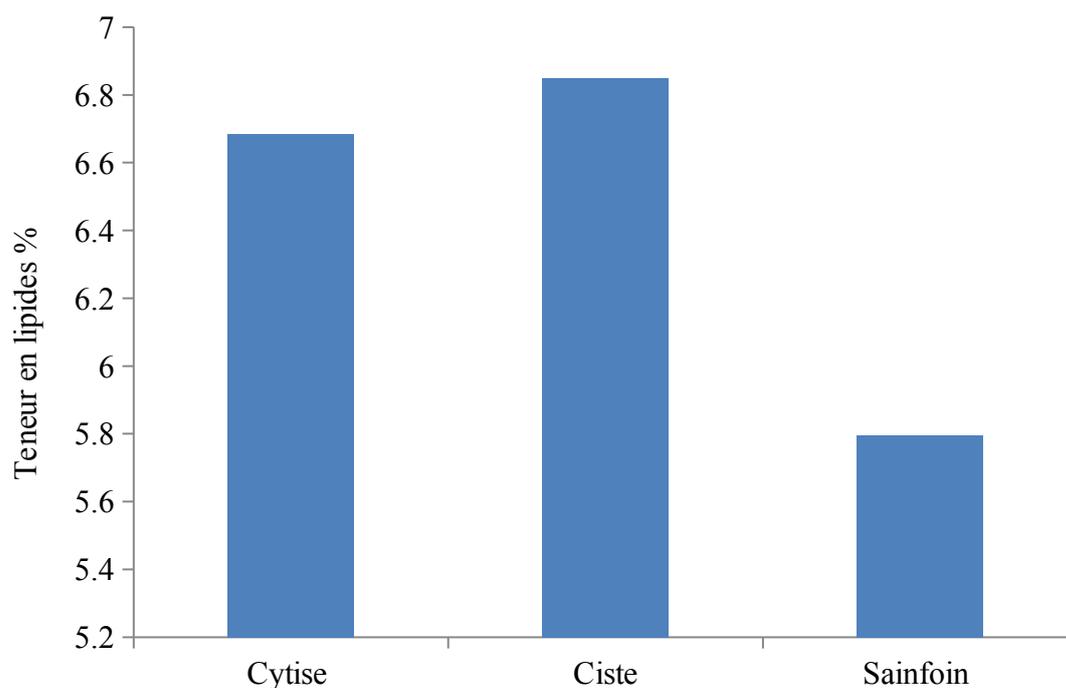


Figure 17: Teneurs en lipides totaux des différents types de pollen(%).

Les teneurs en lipides totaux des différents types de pollen sont proches. En effet, les teneurs enregistrées par ordre croissant sont les suivantes : ciste (4,86%), sainfoin (5,79%) et le cytise (6,62%). L'analyse de la variance n'a pas révélé de différences significatives. Nos résultats sont en concordance avec ceux trouvés par Serra Bonvehí et Escolà Jordà (1997) et Baldi Coronel et *al.* (2004) dont les valeurs trouvées varient respectivement de 4,8 à 7,2 % et 1,76 à 6,76%. Dans une autre étude Compos et *al.* (2008) ont enregistré des teneurs en lipides qui oscillent de 1 à 13%.

Bonvehi *et al.* (1997) ont trouvé que le taux de lipides varie selon l'origine botanique et géographique des pollens. Les lipides de pollen se composent des lipides cytoplasmiques internes et des lipides externes du pollenkitt, mais la teneur en lipides rapportée dans la littérature est dans la plupart du temps celle du pollenkitt et qui peut comporter seulement une petite fraction des lipides totaux (Roulston *et al.*, 2000). De ce fait, et bien que nous ayons appliqué un broyage intensif pour rompre les grains de pollens afin d'extraire la totalité des lipides, les taux peu élevés obtenus comparés à la gamme de 0,8 à 31,7 g/100 g rapportée par la littérature (Human *et al.*, 2006 ; Roulston *et al.*, 2000), prouve que les grains n'ont pas été rompus et que ce taux est celui des lipides accessibles superficiels.

9. Profil en acides gras

Après la séparation par CPG (chromatographie en phase gazeuse) de la matière grasse de différents types de pollen on a obtenue leur composition en acides gras (Tableau VI):

Tableau VI: Le profil en acides gras du pollen d'abeille (%)

Acides gras		Types de pollen		
		Cytise	Ciste	Sainfoin
		Moy±Ecart	Moy±Ecart	Moy±Ecart
C12 : 0	A laurique	0,33±00a	0,99±0,725a	0,655±0,064a
C14 : 0	A myristique	7,83±0,969a	2,015±0,120a	2,19±0,127a
C16 : 0	A palmitique	32,055±2,553a	18,43±2,984a	20,5±4,101a
C17 : 0	A margarique	0,75±0,25455a	0,855±0,459a	1,18±0,523a
C18 : 0	A stéarique	0,885±0,361a	1,47±0,028a	0,32±0,042a
C22 : 0	A béhénique	0,011±0,013a	0,001±0a	0,006±0,004a
SAGS		41,861±1.215a	23,761±2,559a	24,851±3,816a
C16 : 1w7	A. palmétoleique	1,92±00a	0,615±0,318a	0,30±00a
C18 : 1 w 9	A oléique	6,715±0.375a	11,82±4,652a	19,69±4,271a
C18 : 1 trans	A élaidique	6,795±1.308a	-----	2,57±00a
C20 : 1w9	A gondoique	3,945±0.120a	6.675±2.269	8,38±00a
SAGMI		18,415±0,445a	19,11±6,604a	25,315±3,684a
C18 : 2 w 6	A linoléique	15,56±1,159b	28,2±0,396b	4,02±0,551b
C18 : 3 w 3	A linoléique	20,89±0,863a	26,91±0,579a	30,795±1,350a:
SAGPI		36,45±2,022	55,11±0,184	34,815±0,799
SAGIS		60,116±1,660	42,871±4,044	50,166±0,132
AGPI/AGS		0,873±0,023	2,333±0,258	1,428±0,204
W6/w3		0,744±0,024	1,034±0,018	0,131±0,024
w3/w6		1,343±0,044	0,954±0,033	7,756±1,400
AGIS/AGS		1,441±0,002	1,823±0,367	2,042±0,308
AGS/AGIS		0,693±0,001	0,559±0,112	0,495±0,074

À partir du tableau ci-dessus, 13 acides gras (AG) qui ont été identifiés et quantifiés dans les différents échantillons de pollen : A laurique (C12 :0), A myristique (C14 :0), A palmitique(C16 :0), A margarique (C17 :0), A stéarique (C18 :0), A arachidique (C20 :0), A béhénique (C22 :0), A palmétolérique (C16 :1 ω 7), A oléique (C18 :1 ω 9), A élaidique (C18 :1trans), A gondoïque (C20 :1 ω 9), A linoléique (C18 :2 ω 6), A linoléique (C18 :3 ω 3).

L'acide gras principal dans les échantillons de pollen est l'A linoléique avec une valeur comprise entre (20,89-30,79%)suivi par l'A linoléique avec (4,02-28,2%) (qui sont des composés clés pour les membranes cellulaires et sont associés avec la fonction cérébrale et la neurotransmission (Youdimet *al.*, 2000 ; Guil et *al.*, 1996), l'A palmitique entre (18,43-32,05%), l'A oléique (6,71-19,69%), l'A gondoïque (3,94-8,38%),l'A myristique (2,01-7,83%),l'A élaidique (0-6,79%),l'A palmitolérique (0,30-1,92%),l'A margarique (0,75-1,18%),l'A laurique (0,33-0,99%),l'A béhénique (0,001-0,01%) et l'A arachidique avec des traces .

Les échantillons analysés présentent un niveau d'AGIS entre 55,825% et 74,22%. Dans tous les cas, les AGPI sont significativement plus élevés que les AGMI et les AGS. Les profils en acides gras des différents types de pollen d'abeilles étaient similairesà ceux trouvé par (Xesús Feás et *al.*, 2012).

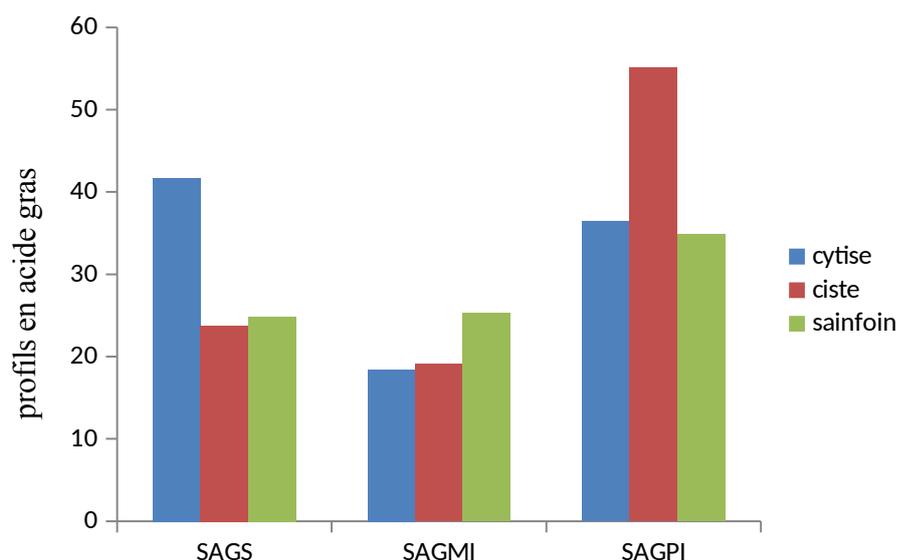


Figure18: Valeurs des différents acides gras des échantillons de pollen.

La figure 18synthétise la composition moyenne en différents catégories d'acides gras (AGS, AGMI, AGPI). Ces résultats montrent que dans le cas de ciste et de sainfoin, les taux des

AGPI sont plus élevés comparativement aux AGS et AGMI. Ces deux catégories sont plutôt proches dans ces deux types de pollen. Dans le cas du pollen de cytise, les AGS sont les plus élevés, suivi par les AGPI et le taux le plus faible est représenté par les AGMI. Ce profil en acides gras montre la dominance des AGIS par rapport aux AGS, avec une proportion plus élevée des AGPI. Ces résultats peuvent prédire d'une part, un rôle nutritionnel important qui peut assurer cette fraction de pollen, et d'autre part le degré d'insaturation relativement élevée peut prédire une susceptibilité à l'oxydation de ce complément alimentaire et la nécessité de prendre certaines précautions au cours de la conservation et de la commercialisation, en utilisant par exemple un emballage hermétique et/ou un conditionnement sous vide ou sous gaz inerte.

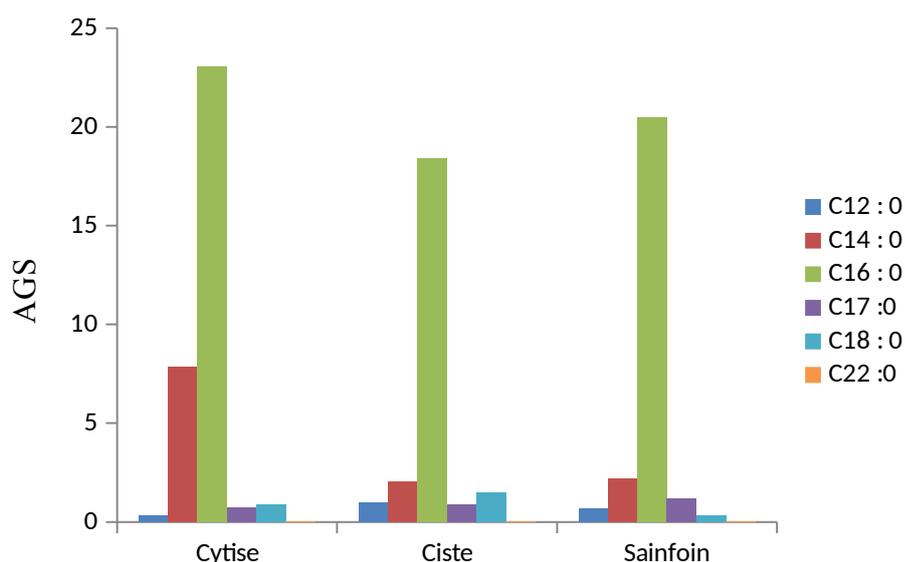


Figure 19: Profil en AGS des différents types de pollen d'abeille.

Dans la catégorie des AGS, l'acide palmitique est le plus représenté dans les trois types de pollen, avec des taux moyens situant entre 20 à 30% des AGS. L'acide myristique est le deuxième acide gras quantitativement plus représenté dans les différents types de pollen, avec toutefois une proportion relativement plus élevée dans le pollen de cytise. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative entre ces valeurs.

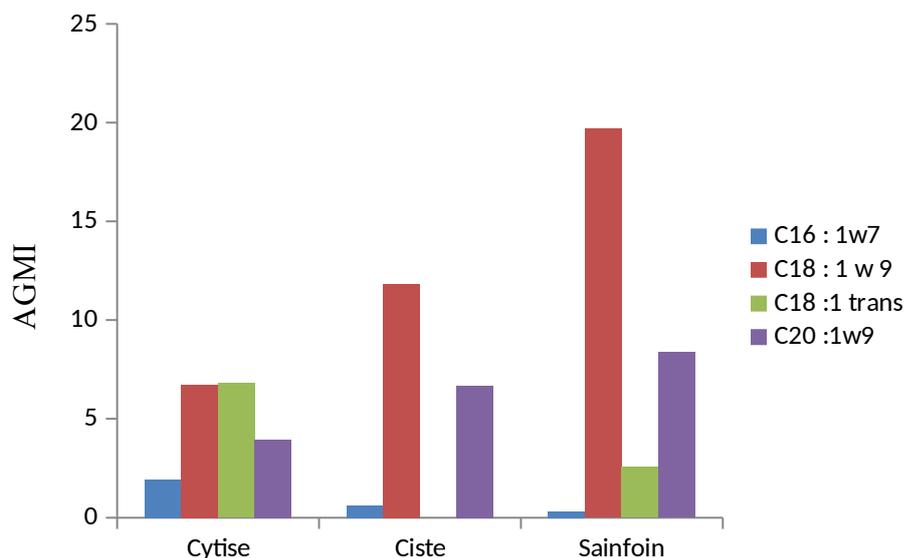


Figure 20: Profil en AGMI des différents pollens d'abeilles.

La figure 20 illustre que dans la catégorie des AGMI, trois acides gras sont représentés et qu'on peut classer par ordre décroissant comme suit : l'acide oléique, acide gondoïque, l'acide éliadique. L'acide palmitoléique est de proportion la plus basse comparativement aux trois acides gras mono-insaturés. L'acide oléique est plus dominant dans le pollen de sainfoin et de ciste, suivi par l'acide gondoïque. Le taux d'acide éliadique est plus élevé dans le pollen de cytise. L'analyse statistique n'a indiqué aucune différence significative entre ces valeurs.

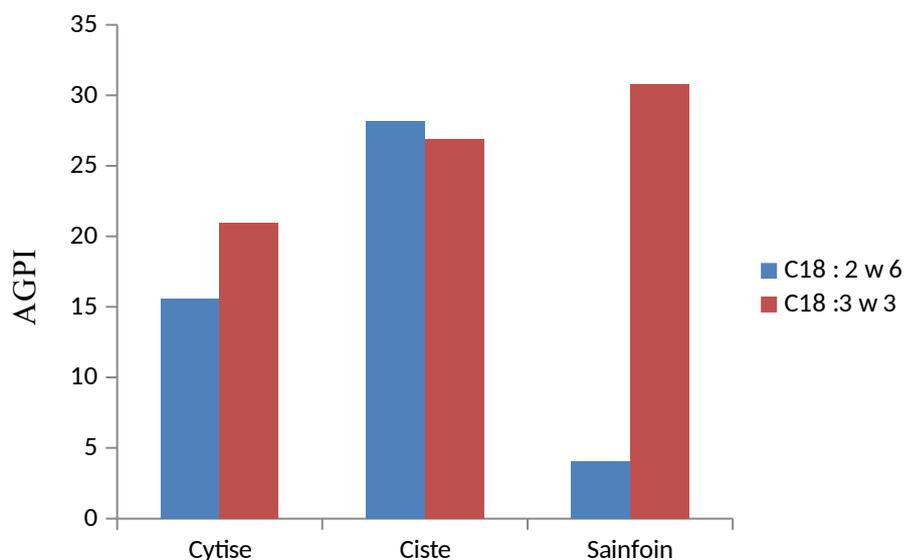


Figure 21: Profil en AGPI des différents types de pollen d'abeille.

La catégorie des AGPI est représentée par deux acides gras : acide linoléique et l'acide linoléique. Ce dernier est le plus représenté dans les trois types de pollen avec sa dominance

dans le pollen de sainfoin et de cytise. Cependant, l'acide linoléique est présent à une proportion la plus élevée dans le pollen de ciste, et un taux moins important dans le pollen de cytise mais il se trouve à une très faible proportion dans le pollen de sainfoin. Ce résultat révèle une disproportion dans la catégorie des AGPI qui peut être relié à l'origine botanique des espèces étudiées. L'analyse statistique a révélé des différences significatives entre ces valeurs au seuil de 5% avec une probabilité de ($p=0.04$).

➤ Rapport d'acides gras :

Les acides gras peuvent être classés de différentes manières selon leur structure, en fonction de la chaîne carbonée qui varie de 4 à plus de 24 carbones, en fonction de leur degré d'insaturation, c'est-à-dire du nombre de doubles liaisons carbone-carbone dans la molécule.

Après avoir analysé les acides gras on a obtenu ces différents rapports AGPI/AGS, W6/W3, W3/W6, AGIS/AGS, AGS/AGIS. De point de vue nutritionnel ces rapports présentent un intérêt bénéfique pour la santé du consommateur.

• AGPI/AGS :

Les résultats du rapport AGPI/AGS des différents types de pollen analysés varient de 0,8 à 2,3 ce qui lui procure une valeur nutritionnelle très importante en comparaison à d'autres rapports nutritionnels d'AGPI/AGS qui sont inférieures ou égales à 1. Ainsi ce rapport joue un rôle très important dans la diminution de la pression artérielle, en faveur d'une réduction du risque de maladies cardiovasculaires (Hall, 2009).

• ω -6/ ω -3 :

La valeur nutritive des acides gras essentiels ω -3 et ω -6 est également largement reconnue pour ses bienfaits sur la santé. Les chercheurs estiment qu'un déséquilibre entre les acides gras ω -3 et ω -6 entraîne certaines maladies inflammatoires et auto-immunes.

La diminution du ratio ω -6/ ω -3 dans le régime diététique diminue la synthèse des prostaglandines et des thromboxanes de la série 2 et des leucotriènes de la série 4. Elle favorise celle des prostaglandines de la série 3 et des leucotriènes de la série 5. Ainsi, il semble que le ratio ω -6/ ω -3 influe sur l'agrégation plaquettaire (HALL et al., 1992).

Les résultats obtenus varient de 0,13 à 1,03 sachant que la valeur recommandée de ce rapport ω -6/ ω -3 doit être inférieure à 5. En effet, tout déséquilibre du rapport entre ces acides gras peut annuler le bénéfice des ω -3. En d'autres termes, notre corps fonctionne de manière optimale

avec un certain ratio $\omega-6/\omega-3$ et c'est par conséquent à cet équilibre qu'il faut veiller (Sanook.,2017).

- **$\omega-3/\omega-6$**

Les valeurs enregistrées dans ce rapport sont très élevées elles varient de 0.95 à 7.75 par conséquent le pollen d'abeille est bien conseillé chez les patients qui ont une croissance intra-utérine retardée.

Le ratio $\omega-3/\omega-6$ doit être important. D'après Bourre et *al.*, 1984 un régime alimentaire pauvre en $\omega-3/\omega-6$ peut modifier la composition des cellules et des particules subcellulaires et selon Eun Jung chung et *al.*, 1997 ce rapport $\omega-3/\omega-6$ a un effet sur l'évolution comportementale et plus précisément sur les neurotransmetteurs.

Conclusion

Les résultats obtenus dans la présente étude nous ont permis d'apprécier la qualité du pollen de trois origines différentes.

La teneur en eau, le pH et l'acidité titrable sont les trois paramètres indicateurs de la qualité. En effet, le taux d'humidité le plus faible, de 24,17%, a été enregistré dans le pollen de sainfoin ; dans ce même pollen nous avons enregistré le taux d'acidité le plus élevé et les valeurs du pH les plus faibles. Cependant, dans les deux autres pollens, nous avons enregistré des taux d'humidité les plus élevés, variant de 37 à 39%, et des valeurs d'acidité titrable les plus faibles et des valeurs de pH les plus élevées. Le taux d'humidité élevé enregistré dans le pollen de ciste et de cytise peut constituer un facteur favorable au développement des micro-organismes d'altération. Ainsi, et d'une manière générale, pour assurer sa conservation, le pollen frais doit subir l'un des traitements physiques de stabilisation suivant : le séchage ou la congélation.

Dans le cas des composés phénoliques, du pouvoir réducteur et de l'activité antioxydante, les résultats obtenus montrent une différence, comme dans le cas des indices de qualité, entre le pollen de sainfoin et les deux autres pollens (ciste et cytise). En effet, le pollen de sainfoin est plus riche en composés phénoliques, et il a un pouvoir réducteur et antioxydant le plus élevé. La richesse du pollen en antioxydant est très bénéfique pour la santé puisqu'ils contribuent à la lutte contre le stress oxydatif et donc prévenir plusieurs pathologies.

La teneur en lipides, des différents pollens étudiés, varie de (5.79% à 6.85%). Les acides gras les plus représentés quantitativement, et qui sont présents dans tous les échantillons, sont : l'acide palmitique (16.32 à 33.86%), l'acide linoléique (20.28 à 31.75%), l'acide linolénique (3.63 à 28.48%). Le pollen d'abeille apporte donc à l'organisme un mélange d'acide gras bien équilibré de point de vue nutritionnel. Toutefois, la richesse du pollen en acides gras insaturés, le rend sensible au rancissement au cours de la conservation.

A la fin de ce travail, nous pouvons conclure que le pollen d'abeille est l'un des principaux produits de la ruche ayant une valeur nutritionnelle et thérapeutique, et qui peut être donc considéré comme étant un aliment. Par ailleurs, et avec un peu plus d'un million de ruches et une flore apicole abondante et diversifiée, la production de pollen en Algérie peut être abondante et donc bénéfique sur le double plan économique et de santé publique.

Références bibliographiques

- AFNOR., 1982.** Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR, p325.
- Ali Ss., Kasoju N., Luthr A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A., Bora U., 2008.** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. Food Res Int, 41: 1–15.
- Al-Mamary M., Al-Meerri A., Al-Hobori M., 2002.** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honeys. Nutrition Research, 22:1041-1047.
- Almaraz-Abarca N., Campos M D., Avila-Reyes J A., Naranjojimenez N., Herrera-Corral J., Gonzalez-Valdez L.S., 2004.** Variability of antioxidant activity among honeybeecollected pollen of different botanical origin. Interciencia ,29 (10): 574-578.
- Almaraz-Abarca N., Campos M.G., Avila-Reyes J.A., Jimenez N.N., Corral J.H., Gonzalez-Valdez., 2007.** L.S.J.Food Comp.Anal. 20 : 119-124.
- 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 Analysis, 18:105-111.
- Almeida A.J., Vieiraa., Uribe-Soto J.N., 2008.** Pollen flavonoid/phenolic acid composition of four species of cactaceae and its taxonomic Significance. American Journal of Agricultural and biological Science, 3 : 534-543.
- Anan'eva T., Dvoretiskii A., 1999.** Effect of beta-carotene oil and bee pollen on ion transport in rat brain slices following radiation-chemical exposure radiats Biol. Radioecol. 39(2-3):341-344.
- Andrada A.C., Telleria M.C., 2005.** Pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from south of Calden district (Argentina), botanical origin and protein content. Grana 44, 115-122.
- Anonyme., 2007.** Pour mieux élever les abeilles. p6.
- Anonyme., 2018.** Origine de grain pollen.
- Anonyme., 2014.** Composition minérale du pollen d'abeille.

AOAC., 1997. Official methods of analysis. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Apimondia., 2001. Standing commission of apitherapy *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.

Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la quantité de leurs produits, *INRA Prod. Anim*, Vol 15, pp67-82.

Balasantaram N., Ai T.Y., Sambathomurthi R., Sundram K., Sammam S., 2005. Antioxidant properties of palm fruit extract. *Asia PAC J Clin Nut.* 4(4): 319-324.

Bandyopadhyay M., Chakraborty R., Raychaudhuri U., 2008. Effect of beet and honey on quality improvement and carotene retention in a carrot fortified milk product. *Innovative Food Science and Emerging technologies*, 9:9-17.

Bárbara M., Machado C., Sodr  G., Dias L., Estevinho L., Carvalho C., 2015. Microbiological assessment, nutritional characterization and phenolic compounds of bee pollen from *Mellipona mandacai* Smith, 1983. *Molecules*, v. 20, n. 12, p. 12525-12544

Baroni M.V., Arrua C., Nores M.L., Fay  P., Del Pilar Diaz M., Chiabrando G.L., Sanz M.L., Gonzalez M., De Lorezo C., Sanz J., Martinez-Castro I., 2008. A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *FoodChemistry*.91:313-317

Barreto L.M.R.C., Funari S.R.C., Orsi R.O., 2005. Composi o e qualidade do p len apicola proveniente de sete estados brasileiros e do Distrito Federal. *Boletim da Ind stria Animal*, v.62, p.167-175.

Bastos D.H.M., Rocha C.I., Cunha I.B.S., Carvalho P.O., Torres E.A.S., 2003. Composi o e qualidade de p len apicola comercializado em algumas cidades nos estados de S o Paulo e Minas Gerais. *Revist. Inst* , 62, 239–244.

Bellanger C., 2009. Charentes mesure les pollens dans l'air d'Angoul me. *Atemo Poito Charentes Nature*, Dossier de press: 1-10.

Benzie I FF., Strain JJ., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power : the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.

- Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli m., Facine RM., 2005.** Standarization of antioxydant proprietes of honey by a combination of spectrophotometric /fluorimetric assays and chemometricx .Analyticachimica, 533 :185-191.
- Blackmore S., Wortley AH., Skvarla JJ., Rowley JR., 2007.** Pollen wall development in flowering plants. *New Phytol* 74 ; 843-498.
- Blasa M., Candiracci M., Accorsi, A., Piacentini M.P., Piatti E., 2007.** Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red cells. *Food Chemistry*, 104: 1635-1640
- Bogdanov., 2004.** Quality and standards of pollen and Beeswax. *APLACTA*, v. 38, P 334-341.
- Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G., Iff D., Känzing., Seiler K., Stöckli., Zürcher K., 2004.** Produits apicoles: 23B pollen. Revus par le groupe d'experts « produits apicoles » MSDA : 1-6.
- Bogdanov S., Cherbuliez T., Stangaciu S., 2006.** Produits apicoles et santé .*AIP forum*, (41f) :3-51.
- Boizot N., Charpentier J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA, Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques, BP 20619-45166
- Bouhadjra K., 2011.** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge p45, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- Boukraa L.,Al., 2008.** Addictive action of royal jelly and honey against *Staphylococcus aureus*. *J Med Food*.
- Boullard B., 1997.** Dictionnaire des plantes et des champignons. Edition ESTEM. Paris : pp.900.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME., Berset C., 1995.** Use of free radical method to evaluate antioxydant activity. *Lebensm wiss Technology*, 28: 25-30.
- Bruneau E., Barbançon J. M., Bonnaffe P., Clement H., Domerego R., Fert G., Le Conte Y. Ratia G., Reeb C., Vaissiere B., 2011.** Le traité Rustica de l'apiculture. Edition Rustica. pp. 528.

- Caillas A., 1957.** Les trois aliments miracles. Ed Paris Librerie spécial agricole. Pp : 31-133.
- Caillet S., Lacroix M., 2007.** Les huiles essentielles leur propriétés antimicrobienne et leur applications potentielles en alimentaire. INRS-INSTITUT ARMAND-FRAPPIER, pp1-8.
- Calixto Ju nior J.T., De Morais S. M., Gomez C.V., Coronel Molas C., Rolon M., Boligon A. A., Athayde M. L., De Morais Oliveira C.D., Tintino S. R., Melo Coutinho H. D., 2015.** Phenolic composition and antiparasitic activity of plants from the Brazilian Northeast __Cerradoll. Saudi Journal of Biological Sciences : pp1-7.
- Campos M., Cunha A., Markham K., 1998.** Inibition of Virulence of Pseudomonas auruginosa cultures, by flavonoids isolated from bee-pollen: possible structure-activity relationships. Polyphenol communications 98., XIXth international conference on polyphenols, Lille.
- Campos M.G.R., Bogdanov S., Almeida-Muradian L. B., Al., 2008.** Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research. 47(2):154-161. doi: 10.3896/ibra.1.47.2.12.
- Campos M.G.R., Bogdanov S., Almeida-Muradian L. B., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C., Ferreira F., 2008.** Pollen composition and standardisation of analytical methods. J. Apicultural Research and Bee World 47:156-163.
- Cao Gh., Alessio Hm., Cutler Rg., 1993.** Oxygen-Radical Absorbency Capacity Assay for antioxidants. Free Radical Biol Med, 14: 303-311.
- Carpes S. T., Begnini R., Mtiasde Alencar S., Lucia Massan M., 2007.** Study of préparations of bee pollen extracts, antioxydant and antibacterial activity. Ciênc. Agrotec. Lavras 31, 1816-1825.
- Carpes T., 2008** Estudo das Caracteristicas Fisico-Quimicas e Biológicas do Polén Apícola de Apis mellifera da região Sul do Brasil. Ph.D. Thesis, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil, September 2008.
- Chauvin R., 1987.** La ruche et l'homme. Edition Calmann - Lévy. France: p.163.
- Chauvin R., 1987.**le miel. In « la ruche et l'homme ». Edition calmann-lévy : 47-45.
- Chauzat., 2005.** L'importance du pollen pour l'abeille domestique. *Bult. Tech. Apic.* 32 (1) 11-17.
- Cherbuliez., 2001.** Apithérapie, CD Rom conçu par la société Apimondia et anonyme API-AR International à Bruxelles (Belgique).

Clement H., Conte Y. L., Barbancon J.-M., Vaissiere B., Collectif.,2011. Le traité rustica e l a iculture. (Rustica éditions, 2011).

Coronel B.B., Grasso S.C., Pereira G., Fernández A., 2004.Caracterización bromatológica del pólen apícola Argentino. Cienc. Docencia. Tecnol. 2004, 15, 141–181.

Darrigol J-L., 1979. Le miel pour votre santé, Saint Jean De Braye, Editions Dangles. p140.

Dhar., Nivedita Bhatta., Shoskes., Daniel A., 2007. New therapies in chronic prostatitis. Current urology reports. juillet 2007. Vol. 8, n° 4, pp. 313-318. PMID: 18519016.

Dobson., 2000.The ecology and evolution of pollen odors. Plant systematic and evolution, v.222, p1-4

Donadieu Y., 1983.Le pollen. Thérapeutique naturelle. Ed.6. Librairie Maloine S.A. Paris p97.

Dorman H.J.D., Kosar M., Kahlos K., Holm Y ., Hiltunen R.J.Agricult., 2003.Food Chemi. 51(16) ,4563-4569.

Duclos., Alain J.L., C.T., Shoskes D.A., 2007. Current treatment options in the management of chronic prostatitis. Therapeutics and clinical risk management. Vol. 3, n° 4, pp. 507-512.

Dragović-Uzelac V., Bursać Kovačević D., Levaj B., Pedisić S., Mezak M., Tomljenović A., 2009. Polyphenols and Antioxidant Capacity in Fruits and Vegetables Common in the Croatian Diet. Agriculturae Conspectus Scientificus 74 (3): pp175–179.

Elist., James., 2006. Effects of pollen extract preparation Prostat/Poltit on lower urinary tract symptoms in patients with chronic nonbacterial prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Urology. janvier 2006. Vol. 67, n° 1, pp. 60-63.

Eun Jung chung Ph.D., Young Sook Um Ph.D., Kyung Hwan Kim M.D., Jin Soo Kim., 1997.Effects of w3/ w6 fatty acids on behavioral developments of rats : Relation with neurotransmitters. Journal of the Korean Neurological Association.15(5): 952-963.

Estevinho L. M., Rodrigues S., Pereira A. P., Feás X., 2012. Portuguese bee pollen: Palynological study, nutritional and microbiological evaluation. International Journal of Food Science & Technology, 47(2), 429–435.

Favier A., 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 108-115.

Folch J., Lees M., Sioane-Staniey GA., 1957. A simple méthode for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 266,497-509.

Gawron-Gzella A., Dudek-Makuch M., Matlawska I., 2012. DPPH radical scavenging activity and phenolic compound content in different leaf extracts from selected blackberry species. *ACTA BIOLOGICA CRACOVIENSIA Series Botanica* 54(2): pp32–38.

Georgiev., Dimiter B., Metka., Marcus., Huber., Johannes C., Goudev., Assen R., Manassiev., Nikolai., 2004. Effects of an herbal medication containing bee products on menopausal symptoms and cardiovascular risk markers: results of a pilot open- uncontrolled trial. *MedGenMed: Medscape general medicine*. 2004. Vol. 6, n° 4, p. 46.

Gharbi M., 2011. Les produits de la ruche: Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat en Médecine-pharmacie, Université Claude-Bernard - Lyon I, p. 221.

Gillian., 1989. Microbiology of pollen and bee bread: taxonomy and enzymology of molds. *Apidologie* v. 20, pp 53-68.

Giliam., 1990. Microorganisms associated with pollen, honey, and brood provisions in the test of a stingless bee. *Melipona fasciata*. *Apidologie* 21. pp: 90-98.

Gonzalez-Paramas.,2006. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chemistry*, v. 95, pp.148–156.

Greenfield et al.,2007. Southgate, données sur la composition des aliments-Production, gestion et utilisation, FAO, organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome, 2007, p.113.

Guil J.L., Torija M.E., Giménez J.J., Rodriguez I., 1996. Identification of fatty acids in edible wild plants by gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 1996, 719, 229–235.

Guo L., Xie M Y., Yan AP., Wan Y Q & Wu Y M., 2006. Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(6): pp1881-1887.

Hadi M., 2004. La quercitrine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et application thérapeutique. Thèse présentée en vue de l'obtention de la maîtrise de Docteur en Science de l'Université Louis Pasteur Domaine pharmaco chimie. p 155.

Hall AV., Parbtani A., Clark WF., Spanner E., Huff MW., Philbrick DJ et al., 1992. Oméga-3 fatty acid supplementation in primary nephrotic syndrome : effects on plasma lipids and coagulopathy. *J Am Soc Nephrol*, 3(6).1321-9.

Hall WL., 2009. Dietary saturated and unsaturated fats as determinants of blood pressure and vascular function. *Nutr Res Rev.* 22 :pp.18.-38.

Herbert E.W., Shimanuki H., 1978. Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie* .9 pp.33–40.

Hesse., Halbritter., Zetter., Weber., Buchner., Frosch-Radivo., Ulrich., 2005. Pollen terminology, An illustrated handbook. Springer Wien, New York.

Hooper T., 1998. Guide to Bees and Honey New ed of 3 revised ed, Alphabet and Image Ltd, p 276.

Huang D., Ou B., Prior Ri., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem*, 53: pp.1841-1856

Hubert R., 1998. Biochimie de l'aliment, acide amines and oligopeptides des ENSIA. activity. I. Assay of superoxide dismutase. *Biomed Biochim Acta*, 46: pp.775–779.

Human H., Nicolson S.W., 2006. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloegretheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry* 67, pp1486–149.

Huseini H.F., Anvari M.S., Khoob Y.T., Rabbani S., Sharifi F., Arzaghi S.M., Fakhrzadeh H., 2015. Anti-hyperlipidemic and anti-atherosclerotic effects of *Pinus edulis* nut in hypercholesterolemic rabbits. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 23 (32) :pp1–5.

Iacopini P., Baldi M., Storchi P., Sebastiani L., 2008. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21:589-598.

Ishikawa Y. et al., 2008. Inhibitory effect of honeybee-collected pollen on mast cell degranulation in vivo and in vitro. *J. Med. Food.* 11(1):14-20

Jean-louis., 2017. Trappe à pollen d'entrée en bois. Bulletin n°82

Jeanne F., 2005. Le pollen : Récolte et conservation. pp : 211-214.

Jean-Prost P., 2005. Apiculture : connaître l'abeille. Conduire le rucher. Edition 7. 698

Jean-Prost P., Medori P., 2005. Matière première. In Apiculture. Lavoisier : Yves le conte. Paris, pp : 161-183.

Jeantet R., Croguennec T., Schuck P et Brull G., 2006. Sciences des aliments : Biochimie, microbiologie, procédés, produits. Ed. Techniques et documentation, Lavoisier. Paris. P264.

Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol* 16: 1099–1106.

Karkar B., Şahin S., Güneş M.E., 2018. Antioxidative effect of Turkish chestnut bee pollen on dna oxidation system and its phenolic compounds. *GIDA* (2018) 43 (1): 34-42.

Kas'ianenko V I., Komisarenko I A., Dubtsova E A., 2011. Correction of atherogenic dyslipidemia with honey, pollen and bee bread in patients with different body mass. *Terapevticheskii arkhiv*. Vol. 83, n° 8, pp. 58-62.

Katan M B., Zock PL ., Mensink RP . , 1994 . effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans : an overview . *Am J Clin Nutr* . 1994 ; 60 :1017-1022

Kedzia B., Holderna-Kedzia E., 2005. Biological properties and therapeutic action of bee pollen. *Postępy Fitoterapii*. 3-4:103–108.

Kempf M., Reinhard A., Beuerle T., 2010. Pyrrolizidine alkaloids (PAs) in honey and pollen-legal regulation of PA levels in food and animal feed required. *Molecular nutrition & food research*. Vol. 54, n° 1, pp. 158-168.

Khalili M., Ebrahimzadeh M.A., Safdari Y., 2014. Antihaemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cells. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 65: 399–406.

Koç AN., Silici S., Kasap F., Hörmet-Oz HT., Mavus-Buldu H., Ercal BD., 2011. Antifungal activity of the honeybee products against *Candida* spp. And *Trichosporon* spp. *J. Med. Food* 14(1-2):128-34.

Koehlin RC., 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition chimique et métabolisme*.20(4) :165-177.

Kolesarova A., Bakova Z., Capcarova M., Galik B., Juracek M., Simko M., Toman R., Sirotkin A V., 2013. Consumption of bee pollen affects rat ovarian functions. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. Vol. 97, n° 6, pp. 1059-1065.

Krassilov., Andrada., 2005. Pollen eaters and pollen morphology: co evolution through the Permian and Mesozoic. *African invertebrates*, v 48 (1), p.3-11.

Krell., R., 1996. Value- added products from beekeeping: F.A.O, Agricultural service bulletin N°124. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. The chief Editor. 156p.

Lapornik B., Prosek M., et Wandra A. L., 2005. Comparison of extracts prepared from plant byproduct using different solvent and extraction time. *Journal of food engineering*, 71 (2): 214-222

Le Conte Y., 2011. Mieux connaitre l'abeille. In : Clément. *Le Traité Rustica de l'Apiculture*. Éd Rustica .Paris . p528.

Leja M., Marecek A., wyzolik G., Klepacz-baniak J., Czekonska K.,2007. Antioxydative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chem*. 100,237- 240.

Leonhardt S.D., Blüthgen N., 2011. The same, but different: pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologie*, 43 : pp 449-464.

Li A.N., Li S., Zhang Y.J., XU X.R., Chen Y.M., Li H.B. (2014). Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients* 6: pp 6020–6047.

Louveaux J., 1968. Étude expérimentale de la récolte du pollen. *Traité de biologie de l'abeille*, Masson et Cie, Paris, 3: pp.174-203

Lowe., Franklin C., Ku., James C., 1996.Phytotherapy in treatment of benign prostatic hyperplasia: a critical review. *Urology*. juillet 1996. Vol. 48, n° 1, pp. 12-20.

Madhavi V., Lele S., 2009. Laccase : Properties and application, *Bioresource* 4(4) ,1694- 1717.

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

Martin S., Parton RG.2005. Lipid droplets: A unified view of a dynamic organelle. *Nature Review Molecular Cellular Biology* 7:pp 373–378.

Maruyama H., Sakamoto T., Araki Y., Hara H., 2010. Anti-inflammatory effect of bee pollen ethanol extract from *Cistus* sp. of Spanish on carrageenan-induced rat hind paw edema BMC Complementary Altern. Med. 10:30.

Mateescu C., 2001. Bee collected pollen – Medical applications in Apimondia.

Medeiros KC., Figueiredo CA., Figueredo TB., Freire KR., Santos FA., Alcantara-Neves NM., Silva TM., Piuvezam MR., 2008. Anti-allergic effect of bee pollen phenolic extracts and myricetin in ovalbumin-sensitized mice J. Ethnopharmacol. 119 (1): pp41- 6

Mensink RP., Zock PL., Kester AD., Katan MB., 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. Am J Clin Nutr. 77 :pp.1146.-1155.

Misset et al., 1989. Voir, connaître et utiliser le pollen. Document INRAP 83. ISSN n° 0396- 4671.

Moita., Eduarda., Gil-Izquierdo., Angel., Sousa., Carla., Ferreres, Federico., Silva., Luís R., Valentão., Patrícia., Domínguez-Perles., Raúl., Baenas., Nieves., Andrade., Paula B., 2013. Integrated analysis of COX-2 and iNOS derived inflammatory mediators in LPS-stimulated RAW macrophages pre-exposed to *Echium plantagineum* L. bee pollen extract. Vol. 8, n° 3, pp.59-131.

Mooney MA., Vaughn DM., Reinhart GA., Powers RD., Wright JC., Hoffman CE et al., 1998. Evaluation of the effects of oméga-3 fatty acid-containing diets on the inflammatory stage of wound healing in dogs. Am J Vet Res, 59(7) ,859-863

Moreira L., Dias L.G., Pereira J.A., Estevinho L.M., 2008. Antioxidant properties total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. Food and Chemical Toxicology 46, 3482-3485.

Nabas Z., Haddadin M. S.Y, Haddadin J., Nazer I. K., 2014. Chemical Composition of Royal Jelly and Effects of Synbiotic with Two Different Locally Isolated Probiotic Strains on Antioxidant Activities. Food Nutr. Sci, Vol. 64, No. 3, pp. 171-180.

Nafia D.B.R.I., Nicollon A., Goff L.K.L., Had-Aissouni L., 2005. Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérable aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate. Implication sur la survie neuronale. Cerebral oxydativestress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations. Consequences for neuronal viability. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 24: 502-509.

Nagai T., Nagashima T., Suzuki N., Inoue R., 2005. Antioxidant activity and angiotensin converting enzyme inhibition by enzymatic hydrolysates from bee bread Z. Naturforsch C. 60(1-2):133-138.

Nichaman MZ., Sweeley CC., Olson RE., 1967., Plasma fatty acids in normolipemic and hyperlipemic subjects during fasting and after linoleate feeding. Am J Clin Nutr. 1967 ; 20 :1057-1069

Nigelle. E., 1972. Pouvoir merveilleux du pollen. Ed Soissons. 20p.

Orza'ez Villanueva M. T., Díaz Marquina A., Bravo Serrano R., Blazquez Abella'n G., 2002. The importance of bee-collected pollen in the diet: a study of its composition. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 53(3), 217-224.

Owen P.L., Johns T., 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern north American plant remedies used for gout. Journal of Ethnopharmacology . 64: 149-160.

Ozcan M., Unver A., Ceylan DA., Yetisir R., 2004. Inhibitory effect of pollen and propolis extracts Nahrung 48(3):188-194.

Pascoal., Ananias., Rodrigues., Sandra., Teixeira., Alfredo., Feás., Xesus., Estevinho., Leticia M., 2014. Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. Vol. 63, pp. 233-239.

Percie du Sert P., 2003. Ces pollens qui nous soignent Guy Trédaniel Editeur, 2nde édition, p211.

Percie du Sert P., 2017. La force des produits de la ruche.

Pernal S.F., Currie R.W., 2000. Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Apidologie, v. 31, pp. 387–409.

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

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

Pinto B. et al., 2010. Antiestrogenic and antigenotoxic activity of bee pollen from *Cystus incanus* and *Salix alba* as evaluated by the yeast estrogen screen and the micronucleus assay in human lymphocytes Eur. J. Med. Chem. 45(9):pp. 4122-4128.

Popov I., Lewin G., Baehr R., 1987. Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I. Assay of superoxide dismutase. *Biomed Biochim Acta*, 46: pp.775–779.

Prado G., 2001. Aromieles en Cuba in Apimondia.

Prost P., Le Conte Y., 2005. Apiculture, connaitre l'abeille, conduire le rucher. Ed. N°7. Lavoisier. 698p

Puente S., Iñiguez A., Subirats M., Alonso MJ., Polo F., Moneo I., 1997.Eosinophilic gastroenteritis caused by bee pollen sensitization *Med Clin. (Barc)*. 108(18):pp.698- 700 .

Pulido R.,Bravo L.,Saura-Calixto F., 2000.Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, pp.3396–3402.

Qiana W., Khana Z., Watsona D.G., Fearnley J., 2008. Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*. v.21, p. 78–83

Quian B., Zang X., Liu X., 1990. Effects of bee pollen on lipid peroxides and immune.

Rabiet E., 1984 .Choix et culture des plantes apicoles. Ed. Rabiet. 418p.

Rahmani C., Hamani I., 2017. Contribution a l'étude des caracteristiques physico-chimiques du pollen de la région de NACIRIA. Mémoire, Mester. UMMTO

Ramalakshmi K., Kubra R. I., Rao Jagan M. L., 2008. Antioxidant potential of low-grade coffee beans. *Food Research International* 41, 96-103.

Raven P., Johnson G-B., Losos J., Singer S., Mamecier A., 2007. Biologie. Bruxelles De Boeck, 1250p

Re R, Pellegrini N., Protrggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26, 1231-12371

Reinhart GA.,1996. Review of Omega-3 Fatty Acids and Dietary Influences on Tissue Concentrations. In CAREY DP, NORTON SA et BOLSER SM, *Recent Advances in*

- Canine and Feline Nutritional Research. Vol. 1. Wilmington, Orange Frazer Press, 1996, 235-42.
- Ribereau-Gayon P., 1968.** Notions générales sur les composées phénoliques, méthodes générales d'études des composés phénolique .In composés phénolique des végétaux .Ed.Dunod, Paris : 1973-201.
- Ribereau-Gayon P., 1972.** Propriétés chimiques des phénols. In «Les composés phénoliques des végétaux ». Edition Dunod Paris,p :2957
- Roulston., 2000.** What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen – pistil interaction, or phylogeny. Ecological Monographs, v. 70, p.617-643.
- Roulston T. H., Cane J. H., 2000.** Pollen nutritional content and digestibility for animals . Plant Systematics and Evolution. 222(1–4):187–209.
- Roulston T. H., Cane J. H., Buchmann S. L., 2000.** What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen-pistil interaction, or phylogeny? Ecological Monographs, 70, 617–643
- Rowley J.R., Claugher D., SKVARLA J.J., 1999.** Structure of the exine in *Artemisia vulgaris* (Asteraceae): A review. Taiwan. 44, pp 1–21.
- Rowley JR., Skvarla JJ., 2007.** Pollen development in *Epilobium* (Onagraceae): from microspore mitosis to formation of the intine. Grana 46:130–139
- Rubin M., Messal JP., 1988.** Abrégé de phytothérapie pratique. Ed .Doin
- Saha M. R., Hasana S. M. R., Aktera R., Hossaina M. M., Alamb M. S., Alam M. A., Mazumder M. E. H., 2008.** In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of the leaves of *Mimusops elengi* Linn. Vet. Med, 6 (2): pp 197- 202.
- Sakanaka S., Ishihara Y., 2008.** Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation tuna homogenates. Food Chemistry. 107: pp 739–744.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri Ja., Saura-Calixto F., 1998.** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J. Sci Food. Agric, 76: pp.270–276.
- Sanchez-Moreno C., 2002.** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. Science and Technologie International, 8(3):pp.121- 137.

- Santangelo C., Vari R., Scazzocchio B., Di Benedetto R., Filesi C., Masella R., 2007.** Polyphenols, intracellular signaling and inflammation. *Ann Ist Super Sanità* 43 (4): pp.394–405.
- Scherer R., Godoy H. T., 2009.** Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, v.112, pp.654-658.
- Schram D.D., Karim M., Schrader H.R., Holt R. R., Cardetti, M., Keen C.L., 2003.** Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:1732-1735.
- Serra Bonvehi J., Gomez Pajuelo A., Gonell Galindo F., 1986.** Physicochemical properties and composition of honeybee-collected pollen produced in Spain. *Alimentaria*, 176, 63-67.
- Serra-Bonvehi et al., 1997.** Nutrient Composition and Microbiological Quality of Honeybee-Collected Pollen in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, pp. 725-732.
- Sert., Patrice Percie du., 2005.** *Ces pollens qui nous soignent*. Editeur Guy Tredaniel, 2005.
- Silva B.M., Andrade P.B., Valentao P., Ferreres F., Seabra R.M., Ferreira M.A., 2004.** Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel and seed) and jam: antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, pp.4705–4712.
- Silva T.M.S., Camara C.A., Links A.C.S., Barbosa –Filho J.M., Silva E.M.S., Freitas B.M., et al., 2006.** Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), pp. 507–511.
- Singh V.K., Singh S., Singh D.K., 1999.** Effect of active molluscicidal component of spices on different enzyme activities and biogenic amine. *Phytotherapy research* : PTR 13, 649–54.
- Stanciu O.G.V., 2008.** Research Concerning In Vitro Antioxidant Capacity Of Biologic Active Compounds Of Honeybee-Collected Pollen, PhD Thesis.
- Stanley R.G. and Linskens H.F., 1974.** *Pollen: Biology, biochemistry, management*. Heidelberg, Germany, Springer.
- Szczesna T., Rybak-Chmielewska H., Skowronek W., 1995.** Zmiany w składzie chemicznym obnóżek pyłkowych zachodzące podczas ich przechowywania w różnych warunkach. III. witamina C i prowitamina A (μ -karoten) [Alterations in the chemical composition of the pollen loads

stored under various conditions. III vitamin C and provitamin A (μ -carotene)]. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe* 40:pp 171–189.

Szczesna T., Rybak-Chmielewska H., Chmielewski W., 2002. Sugar composition of pollen loads harvested at different period of the beekeeping season. *Journal of Apicultural Science* 46 (2) :pp.107-115.

Szczesna T., 2006. Long chain fatty acids composition of honeybee-collected pollen. *Journal of Apicultural Science*. 50(2):pp.65–79.

Szczesna T., 2006. Protein content and amino acid composition of bee-collected pollen from selected botanical origins. *Journal of Apicultural Science*. 50 (2) :pp.81-90.

Szczesna T., 2007. Study on the sugar composition of honeybee-collected pollen. *Journal of Apicultural Science*. 51 (1) :p. 15.

Tavella M., Peterson G., Espeche M., Cavallero E., Cipolla L., Perego L., al., 2000. Trans fatty acid content of a selection of foods in Argentina. *Food Chemistry*, 69(2), 209- 213.

Tomas-Loreme et al., 1992. Flavanoids from *Cistus ladanifer* bee pollen. *Phytochemistry*, v. 31(6), pp. 2027-2099.

Torres , Assegid G, Erik S., Ingolf L., 2003. Calorimetric investigation of the antimicrobial action and insight into the chemical properties of « angelita » honey-a product of the stingless bee *tetragonisca angustula* from colombia. *Thermochimica Acta* 415 :107- 113.

Vercautern J.; Cheze C.; Triau J., 1996. Polyphénols .Edition : INRA, Paris : PP 31 – 43.

Wagenlehner, F.M.E., Schneider H., Ludwig M., Schnitker J., Brähler E., Weidner W., 2009. A Pollen Extract (Cernilton) in Patients with Inflammatory Chronic Prostatitis–Chronic Pelvic Pain Syndrome: A Multicentre, Randomised, Prospective, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Study. *European Urology*. septembre 2009. Vol. 56, n° 3, pp. 544-551.

Wageningen., 2005. Fondation Agromisa et CTA.

Wang B., Diao, Q., Zhang Z., Liu, Y., Gao, Q., Zhou, Y., LI, S., 2013. Antitumor activity of bee pollen polysaccharides from *Rosa rugosa*. *Molecular medicine reports*. mai 2013. Vol. 7, n° 5, pp. 1555-1558.

Wang J., Jin GM., Zhen YM., Li SH., Wang H., 2005. Effect of bee pollen on development of immune organ of animal *Zhongguo Zhong Yao ZA Zhi*. 30(19):1532-1536

Williams DG., 1993. The chemistry of essential oils. Micelle Press. England

Wu., Yao-Dong., Lou, Yi-Jia., 2007. A steroid fraction of chloroform extract from bee pollen of *Brassica campestris* induces apoptosis in human prostate cancer PC-3 cells. *Phytotherapy research: PTR*. novembre 2007. Vol. 21, n° 11, pp. 1087-1091.

Xesús Feás M., Pilar V., Leticia E., Julio A.S., Antonio I., 2012. Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality . 17, 8359-8377.

Xiang Q., Gao Y., Xu Yh., 2007. Capillary electrophoresis – amperometric determination of an antioxidant propyl gallate and butylate hydroxanisole in foods. *Analytical science*, 23(6), 713.

Xie Y., Wan B., Li W., 1994. [Effect of bee pollen on maternal nutrition and fetal growth]. *Hua xi yi ke da xue xue bao = Journal of West China University of Medical Sciences* 172 = *Huaxi yike daxue xuebao* / [bian ji zhe, Hua xi yi ke da xue xue bao bian wei hui]. décembre 1994. Vol. 25, n° 4, pp. 434-437.

Yasumoto R., Kawanishi H., Tsujino T., Tsujita M., Nishisaka N., Horii A., Kishimoto T., 1995. Clinical evaluation of long-term treatment using cernitin pollen extract in patients with benign prostatic hyperplasia. *Clinical therapeutics*. février 1995. Vol. 17, n° 1, pp. 82-87.

Yildiz., Oktay., Can., Zehra., Saral., Ozlem., Yuluğ., Esin., Oztürk., Ferhat., Aliyazicioğlu., Rezzan., Canpolat., Sinan., Kolayli., Sevgi., 2013. Hepatoprotective potential of chestnut bee pollen on carbon tetrachloride-induced hepatic damages in rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*. Vol, pp. 461478.

Yildiz O., Karahalil F., Can Z., Sahin H., Kolayli S., 2013. Total monoamine oxidase (MAO) inhibition by chestnut honey, pollen and propolis. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*.

Youdim K.A., Martin A., Joseph J.A., 2000. Essential fatty acids and the brain: Possible health implications. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2000, 18, 383–399. 33.

Zhang X., Habib F K., Ross M., Burger U., Lewenstein A., Rose K., Jatton J C., 1995. Isolation and characterization of a cyclic hydroxamic acid from a pollen extract, which inhibits cancerous cell growth in vitro. Journal of medicinal chemistry. 17 février 1995. Vol. 38, n° 4, pp. 735-738.

Site web :

<https://www.nutriting.com/comprendre-la-nutrition/la-nutrition-en-7-lecons/les-lipides/>

<https://eurekasante.vidal.fr/nutrition/corps-aliments/lipides-energie.html?pb=acides-gras-satures-insatures-trans#Z4Bky0P3cs4C13Z6.99>.

<https://www.encyclopedie-universelle.net/abeille1/abeille-recolte-pollen.jpg>.http://abeillesduberry.com/?page_id=286.

Annexes : Préparation des solutions a utilisées

1. hydroxyde de sodium (NaOH) à 0.1 N :

40 g \longrightarrow 1000 ml (ED)

X \longrightarrow 0.1 N

$X = 0.004g$

2. Phénolphtaléine à 1%

1g \longrightarrow 100ml l'éthanol

3. Tampon phosphate à 0.2N, pH = 6.6 :

26.6ml (Na₂HPO₄) + 23.4ml (KH₂PO₄)

Soit :

Na₂HPO₄

0.5g \longrightarrow 50ml ED

KH₂PO₄

0.29675g \longrightarrow 25 ml ED

4. Ferricyanure de potassium (K₃[Fe(CN)₆]) à 1% :

1g \longrightarrow 100ml (ED)

5. Acide trichloracétique (C₂HCl₃O₂) à 10% :

10g \longrightarrow 100ml (ED)

6. Chlorure ferrique (FeCl₃) à 0.1 % :

0.1g \longrightarrow 100ml (ED)

7. Acide sulfurique (H₂SO₄) à 0.6M :

La concentration de l'acide sulfurique = 18.4 mole / 1000 ml.

$$C1.V1 = C2.V2 \quad ; \quad V2 = 50 \text{ ml}$$

$$18.4 \times V1 = 0.6 \times 50$$

$$V2 = 1.63 \text{ ml}$$

8. Phosphate de sodium (Na₂HPO₄)

$$1 \text{ mole} \longrightarrow 156,01 \text{ g}$$

$$1 \text{ mmole} \longrightarrow 156,01 \times 10^{-3}$$

$$28 \text{ mmole} \longrightarrow X$$

$$X = 4368,28 \times 10^{-3} \text{ g}$$

$$4.36 \longrightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$X \longrightarrow 100 \text{ ml}$$

$$X = 0.436 \text{ g}$$

9. Molybdate d'ammonium (NH₄MO₂O₇)

$$1 \text{ mole} \longrightarrow 1235,86 \text{ g}$$

$$1 \text{ mmole} \longrightarrow 1235,86 \times 10^{-3}$$

$$4 \text{ mmole} \longrightarrow X$$

$$X = 4943,44 \times 10^{-3} \text{ g}$$

$$4.94 \longrightarrow 1000 \text{ ml}$$

X → 100 ml

$$X = 0.49 \text{ g}$$

10. Bicarbonate de sodium à 2%

2g → 100ml (ED)

11. Hydroxyde de potassium méthanoïque (KOH) à 2N :

KOH → 56.11 → 1N → 1000 ml de méthanol

2×56.11 → 1000 ml

X → 10ml

$$X = 1.12$$