

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques

Département d'Agronomie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master

Option : Transformation et Conservation des Produits Agricoles



Thème



Contribution à l'étude des caractéristiques physico-chimiques du pollen d'abeille de la région de Naciria

Réalisé par :

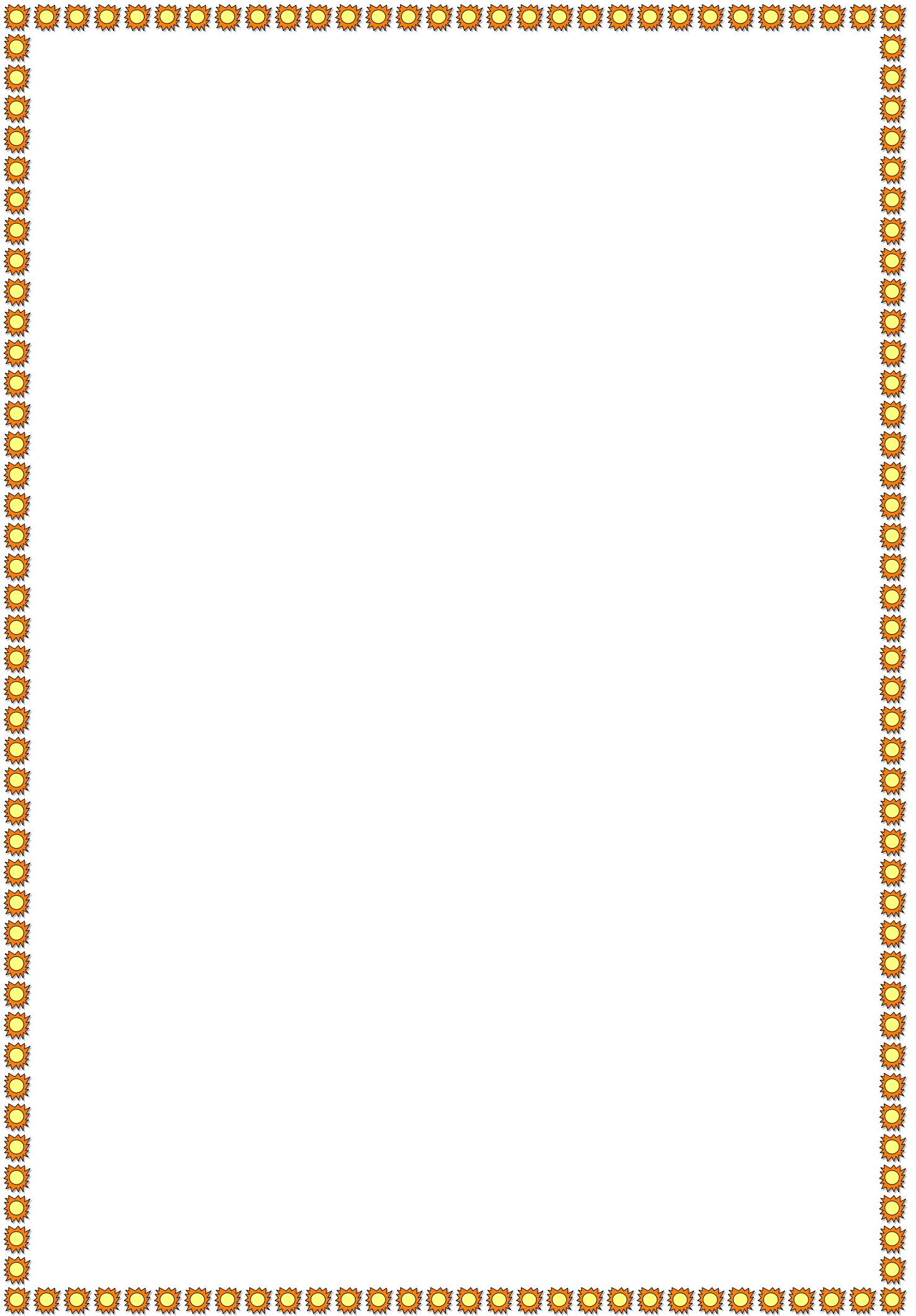
- M^{elle} : Amrani Sara
- M^{elle} : Aliouat Sadia

Président : M. AMROUCHE T. : Maître de conférences A (U.M.M.T.O)

Encadreur : M. BENGANA M. : Maître de conférences B (U.M.M.T.O)

Examinatrice : M^{me} BENTAYEB S : Maître assistante chargée de cours A (U.M.M.T.O)

Année universitaire : 2016-2017





Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements :

A M. BENGANA M. Maître de conférences, pour son encadrement, son suivi et ses conseils qui ont été pour nous une source d'encouragement et qui ont contribué efficacement à l'aboutissement de ce mémoire.

A M^{me} BENTAYEB S. Maître assistante, chargée de cours, d'avoir accepté d'être examinatrice de ce travail.

A M. AMROUCHE T. qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

A nos amis de l'Université Mouloud Mammeri et ceux du département de Biologie et Agronomie auxquels nous nous sommes très reconnaissants.

N°	Titre	Page
01	Composition en vitamines du pollen récolté par l'abeille.....	06
02	Critères de qualité du pollen récolté par l'abeille	19
03	Contaminants microbiologiques du pollen récolté par l'abeille.....	20
04	Préparation des dilutions de l'acide gallique (GA) pour la réalisation de la courbe d'étalonnage des poly-phénols totaux	30
05	Préparation des dilutions de l'acide ascorbique pour la réalisation de la courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant	31
06	Les proportions de différents types du pollen selon la couleur.....	34
07	Le pollen d'abeilles correspondant aux espèces des plantes mellifère	36
08	Etalon des quatre types du pollen analysés	36
09	le poids des 100 pelotes de pollen.....	37
10	Teneur en poly phénol totaux en mg/Kg.....	45
11	Teneur en activité-antioxydant (mg /kg) de différents types du pollen	47

AFNOR : Association Françaises de Normalisation

AG : Acide gallique

DO : Densité optique

EMP : Extrait Méthanolique du pollen

Résumé

Ce travail a pour but d'étudier quelques caractéristiques physico-chimiques du pollen d'abeilles de la région de Nacéria. Le pollen récolté par l'abeille durant le mois de Mars jusqu'au début du mois d'avril est de type multiflorale provenant de plusieurs espèces botaniques. Il est constitué essentiellement de quatre types de pollens : marron, brun, orange, vert olive. Le poids de 100 pelotes varient de 0,65g à 0,9 g. Les caractéristiques physico-chimiques du pollen récolté varient remarquablement entre les échantillons : la teneur en eau (19,4-22,5%), le pH (5,0-6,0), le taux d'acidité titrable (4,5-14,6) ainsi que la teneur en cendres (0,21-0,62%). Cette fluctuation des valeurs entre échantillons est due à la diversité des origines florales du pollen récolté. Les échantillons de pollens analysés ont des teneurs en polyphénols qui varient de 3,6 à 11,2 mg/kg. Cette richesse reflète le pouvoir antioxydant de cet aliment.

Mots clés : pollen d'abeille, grain de pollen, plantes mellifères, caractéristiques physico-chimiques, polyphénols, activité antioxydante

Introduction

L'homme se sert des produits de la ruche depuis la nuit des temps. De nos jours, les produits apicoles sont utilisés comme aliments, compléments alimentaires, additifs dans les produits cosmétiques et médicaments api thérapeutiques. Le pollen est l'un de ces produits de la ruche. C'est l'élément mâle des plantes à fleurs, il est sous forme de grains microscopique contenus dans les anthères des étamines. **(Prost, 2005)**

Les abeilles mellifères collectent le pollen sur les étamines des fleurs, et l'entassent dans les alvéoles des rayons afin qu'il se transforme en pain d'abeilles. Le pollen stocké dans les alvéoles subit des modifications physico-chimiques telles que la fermentation lactique. Ce pollen sert de nourriture aux abeilles **(Gilliam, 1979a ; 1979b ; Gilliam et al., 1980 ; Gilliam et al., 1990).**

Par ailleurs, l'homme, par la technique de trappe à pollen, a réussi à enlever une partie du pollen butiné par l'abeille, sous forme de pelotes, pour l'utiliser comme complément alimentaire. Ce pollen est consommé pour ses valeurs alimentaire et diététique élevées. Il est en effet riche en éléments nutritifs et en substances biologiquement actives **(Roulston et al., 2000, Almeida-Muradian et al., 2005 ; Human et al., 2006 ; Silva et al., 2006).**

Le pollen d'abeille est essentiellement polyfloral. Sa composition dépend principalement des espèces mellifères et des conditions climatiques de la région de production.

L'Algérie a de fortes potentialités apicoles. En effet, la flore apicole se concentre principalement au nord du pays, et qui s'étale jusqu'aux régions steppiques. Cette diversification de la flore apicole offre une succession de miellées et de pollinées permettant aux apiculteurs, par la pratique de la transhumance, d'effectuer des récoltes du miel et du pollen sur plusieurs périodes de l'année.

Les apiculteurs algériens produisent principalement du miel. Cependant, ces dernières années, la production du pollen ne cesse de capter l'intérêt de plusieurs d'entre eux. En effet, ils sont de plus en plus nombreux à produire du pollen et à le vendre particulièrement à l'occasion des foires apicoles.

Dans ce contexte, le présent travail veut une contribution à l'étude de quelques caractéristiques physico-chimiques, particulièrement la teneur en composés phénoliques et de l'activité antioxydante, du pollen d'abeille récolté dans la région de Naciria.

1.1. Définition et origine

L'appareil sexuel mâle des fleurs possède plusieurs étamines, chacune étant constituée de deux parties, le filet et l'anthère qui contient des grains de pollen. Les grains de pollen représentent les gamètes mâles chez les plantes supérieures (**Frédéric et Alexis., 2013**). Le mot pollen, qui est d'origine latin, signifie farine de fleur, il se présente sous forme microscopique de tailles très variables, porté dans les fleurs par les anthères des étamines. Le pollen peut avoir des couleurs différentes suivant les espèces de plantes; du blanc le plus pâle au noir le plus intense; mais en majorité, le pollen est jaune ou marron clair (**Biri,1999 ; Jean-Prost et Medori, 2005**).

Le pollen est la seule source naturelle protéique de la ruche, il sert à la colonie d'abeilles de source d'alimentation pour le couvain. Il est récolté par les butineuses qui le mettent dans des poches spécifiques pour former des petites pelotes, sur la 3^{ème} paire de pattes (**Romano, 2009**).

1.2. Les pelotes de pollen

Les pelotes de pollen sont des masses de formes et de couleurs très variables. La masse des pelotes dépend de la durée du vol de butinage de l'abeille et de l'importance de la floraison des plantes visitées. Le poids moyen d'une pelote de pollen est d'environ 5 mg. A chaque vol, l'abeille ramène dans la ruche, dans ses deux corbeilles à pollen, entre 10 et 20 mg de pollen. Le nombre de grains de pollen constituant une pelote est très variable, selon les fleurs visitées par l'abeille, étant donné les grandes disparités entre les dimensions de ces grains. La forme des pelotes varie également en fonction des espèces végétales. Grossièrement sphérique, une pelote de pollen peut avoir des formes plus arrondies ou plus anguleuses. Les couleurs de ces pelotes sont sensiblement différentes selon les fleurs butinées. Ces couleurs vont du jaune au noir, en passant par toutes les nuances, de brun et de rouge (**Darrigol, 2007**).

1.3. La morphologie d'un grain de pollen

Le grain de pollen a une morphologie très variable selon les espèces végétales (**Krassilov et al., 2007 ; Andrada et al., 2005 ; Hesse et al., 2005 ; Kalinowski et al., 2005**). Cependant, et en général, le grain de pollen est limité par une membrane cytoplasmique, une paroi cellulosique, l'intine et une paroi spéciale, l'exine. L'intérieur du

grain est constituée par le cytoplasme contenant deux noyaux : végétative et reproducteur, 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).

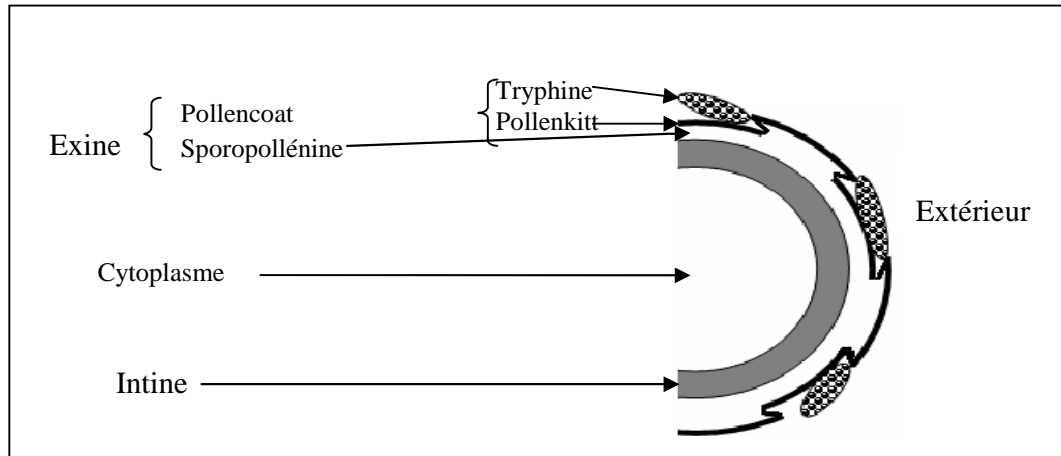


Figure N°1: Coupe schématique de la paroi d'un grain de pollen (Chauzat et al., 2005).

1.4. Composition chimique du grain de pollen

La composition chimique du pollen d'abeille varie selon l'espèce, les conditions ambiantes et le stade de développement du pollen (Barajas et al., 2012). Les principaux constituants du pollen récolté par l'abeille sont :

1.4.1. Eau

La teneur en eau du pollen récolté par l'abeille varie en général, entre 20 à 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.

1.4.2. Les protéines et les acides aminés

La teneur en protéines contenues dans un 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). Dans une étude de synthèse portée sur

377 espèces de plantes issues de 93 familles, **Roulston et al.,2000**) soulignent que la teneur en protéines varie de 12 à 61%.

Ces protéines sont essentiellement présentes dans le cytoplasme du grain de pollen (**Chauzat et al.,2005**) .

Il faut noter que la composition du pollen en acides aminés est variable aussi, tant quantitativement que qualitativement en fonction de l'origine botanique (**Szczesna, 2006 ; Roulston et al., 2000b**). Cependant la teneur en acides aminés essentiels (exprimé en % de la totalité des acides aminés) est relativement stable (**Szczesna, 2006**).

1.4.3. Les glucides

Les hydrates de carbones sont les principaux constituants du pollen. Leur teneur peut atteindre jusqu'à 60% (masse/masse sèche) (**Human et al., 2006**). Le fructose, le glucose et le saccharose sont les plus abondants et forment environ 90% de la totalité des sucres (**Campos et al., 2008 ; Qian et al., 2008**). Cette part importante des sucres est le résultat de l'addition des butineuses du miel ou de nectar pour en façonner les pelotes, on trouve aussi d'autres oligosaccharides tels que la cellulose, les hémicelluloses, la pectine ...etc.

1.4.4. Les lipides

La fraction lipidique varie fortement de 1 à 20% du poids des grains de pollen selon l'origine botanique (**Campos et al., 2008 ; Roulston et al., 2000**) ; elle est composée d'acides gras saturés et insaturés, de vitamines, de pigments, d'alcools supérieurs, de cires, de stérols et de composés hydrocarbonés saturés (**Roulston et al., 2000**). Les acides gras sont essentiellement de l'acide linoléique, linoléique, et oléique; 70% des acides gras sont insaturés, dans lesquels l'acide linoléique et arachidonique constituent de 19 à 56% de la totalité des acides gras insaturés (**Campos et al., 2008**).

1.4.5. Les vitamines

Le pollen est riche en vitamines hydrosolubles et pauvre en vitamines liposolubles (**Roulston et al., 2000**). Il contient différentes vitamines (tableau I) telles que la vitamine B1, B2, B3, C, H, acide folique et tocophérol (**Campos et al., 2008**), D et K (**Roulston et al., 2000**). A noter que le pollen ne contient pas de la vitamine A mais il contient des carotènes qui sont transformés au niveau intestinal par l'organisme pour produire la vitamine A (**Cherbuliez, 2001**).

Tableau I: Composition en vitamines du pollen récolté par l'abeille (**Campos et al., 2008**).

Vitamines	Teneur (mg /Kg)
β -carotène	10-200
Thiamine (B1)	6-13
Riboflavine (B2)	6-20
Niacine (B3)	40-110
Acide pantothénique (B5)	5-20
Pyridoxine (B6)	2-7
Acide ascorbique (C)	70-560
Biotine (H)	0.5-0.7
Acide folique	3-10
Tocophérol (E)	40-320

1.4.6. Minéraux

Le taux de cendres contenu dans le pollen est, généralement, compris entre 2 et 4% du poids du pollen (**Human et al., 2006 ; Almeida-Muradian et al., 2005**). La composition minérale du pollen récolté par l'abeille dépend non seulement de l'origine botanique (**Campos et al., 2008**), mais également des conditions climatiques (sol, origine géographique) (**Serra-Bonvehi et al., 1997**).

Parmi les éléments minéraux que contient le pollen, il y a le Fer, Calcium, Zinc, Potassium, Sodium, Cuivre, Magnésium, Phosphore et Manganèse (**Serra-Bonvehi et al., 1997 ; Bell et al., 1983**). L'élément minéral principal dans le pollen est le Potassium (environ 60% de la totalité des minéraux), suivi par le Magnésium (env. 20%) et Na et le Calcium (10%) (**Campos et al., 2008**).

1.4.7. Les Enzymes et coenzymes

Les enzymes sont additionnés par les abeilles lors de la confection de la pelote de pollen, contenant : l'amylase, l'invertase, saccharase, Amylase, Diaphorase , Catalase, Pectase, Diastase, certaines phosphatases, des transférases et de nombreux cofacteurs enzymatique tel que les biotines, le glutathion, ainsi que certains nucléosides (**Herbert et al., 1992 ; Cherbuliez, 2001**) .

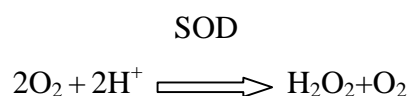
1.4.8. Les antioxydants

De nos jours, les antioxydants d'origine naturelle sont considérés comme multifonctionnels, et une alternative intéressante aux antioxydants synthétique, et qui peuvent être utilisés pour prévenir les maladies et l'oxydation des systèmes alimentaires complexe (WANG et al., 2008).

Les propriétés antioxydantes du pollen ont été mesurées comme l'inhibition de la peroxydation des lipides et l'activité anti radicalaire contre les radicaux libres, tels que les peroxydes. La capacité antioxydante élevée du pollen liée essentiellement aux différents composés phénoliques qu'il contient tel que les flavonoïdes, les acides phénoliques (IEJA et al., 2007).

Les équipements enzymatique antioxydant qui sont inclus dans un système antioxydant pour lutter contre les radicaux libre sont :

- ✓ Le superoxyde dismutase (SOD) : catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène selon la réaction de dismutation suivante (Ouchemoukh, 2012) :



- ✓ Catalase : neutralise de grandes quantité d'H₂O₂, issus de la mitochondrie. Elle prévient la formation des radicaux OH⁻ et empêche le peroxyde d'hydrogène de participer à la réaction de Fenton. Cette protéine agit sur le même substrat que la glutathion peroxydase, avec laquelle elle peut entrer en compétition, mais son action prédomine si la production d'H₂O₂ est élevée (Jean-philippe, 2012) .
- ✓ Glutathion-peroxydase : elle assure la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau, elle joue aussi un rôle de détoxification par réduction de deux substrats, le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques (Ouchemoukh, 2012).

Patrice Percie du Sert, apiculteur spécialisé dans la conservation du pollen a évalué la capacité antioxydante de différents pollens grâce au test ORAC. Les résultats montrent que les divers pollens ont une capacité antioxydant beaucoup plus élevée que les fruits et légumes.

A titre de comparaison, 15 à 20 grammes de pollen frais équivalent à 900 grammes de légumes. (Patrice Percie du sert, 2005)

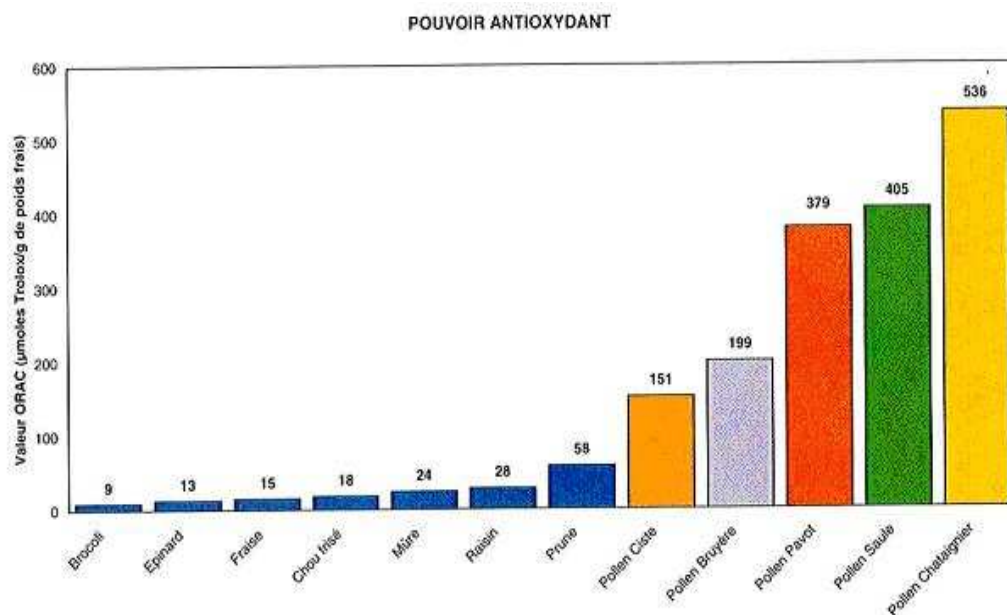


Figure N°2 : Le pouvoir antioxydant de pollen (Patrice Percie du sert, 2005)

1.4.9. Autres composants

Le pollen d'abeille contient un certains nombre de substances bioactives, comme les composés phénolique, le flavonoïde, anthocyanes, des phospholipides.

- ✓ Les flavonoïdes sont connus par leur effet immunomodulateur et anti-inflammatoire (Qin et Sun, 2005).
- ✓ Fraction phénolique neutralise les espèces actives de l'oxygène (Silva et al, 2000).
- ✓

1.5. Valeur thérapeutique du pollen

Le pollen avec sa moyenne de 25% de protéines, est l'aliment le plus riche en acide aminés. 100g de pollen contient la même quantité d'acide aminés qu'un kilo de viande boeuf. Les actions connues sur le corps humain, sont multiple (Blanc M, 2010) ;

- Action régulatrice des fonctions intestinales.
- Augmentation du taux d'hémoglobine dans le sang chez les anémies.
- Regain d'appétit et de poids et apport de l'énergie.
- Récupération rapide des forces après grippe, ou dépression.

- Action fortifiante sur le système circulatoire, notamment capillaire.
- Action bienfaisante sur la fonction du foie et récupération rapide après ictère.
- Le pollen est caractérisé par une capacité antioxydante élevée liée essentiellement aux différents composés phénoliques qu'il contient tel que les flavonoïdes, et les acides phénoliques.
- Le pollen est riche en sélénium. Cet oligoélément connu pour renforcer le système immunitaire, prévenir des cancers, des maladies inflammatoires.
- Est un antibiotique, antidépressif, agit contre l'athérosclérose et combat l'augmentation du taux de cholestérol.
- Le pollen peut aussi être utilisé en externe dans les produits de soin de la peau ou encore en pommade. Il améliore l'éclat, la beauté et la tonicité de la peau ou des cheveux.
- Le pollen n'est pas seulement récolter 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 périodes de pénurie, ou il peut servir à l'étude de réaction allergique telle 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**).

1.6. L'importance du pollen pour les abeilles

Le pollen est un élément nutritif indispensable pour les abeilles car il représente le seul apport en protéines nécessaire à l'élevage du couvain. Les abeilles butinent le pollen, afin de s'en servir comme aliment pour tous les stades de développement dans la ruche, elles ont besoin pour leur reproduction, notamment pour nourrir les larves. Le pollen est la seule source de protéines alimentaire, d'une colonie d'abeilles, récolté dans leur environnement naturel. La présence de pollen dans le nid est une condition préalable à la connaissance des colonies et le développement du couvain. L'élevage de couvain est un facteur majeur dans la production apicole et elle est influencée principalement par l'alimentation de pollen et nectar (**ROMANO, 2006**).

1.7. Source de pollen :

La source de pollen est la fleur des plantes.

1.7.1. Constitution de la fleur

La fleur contient en général, deux sortes d'organes reproducteurs : les étamines ; organe mâle remplis de grains de pollen et le pistil ; organe femelle qui renferme des ovules. A côté des organes reproducteurs se trouvent : pétales, grande et colorés ; nectaire sécrétant le nectar, et les sépales protégeant l'ensemble des autres organes floraux avant l'épuisement de la fleur (figure 3) .(Prost,2005).

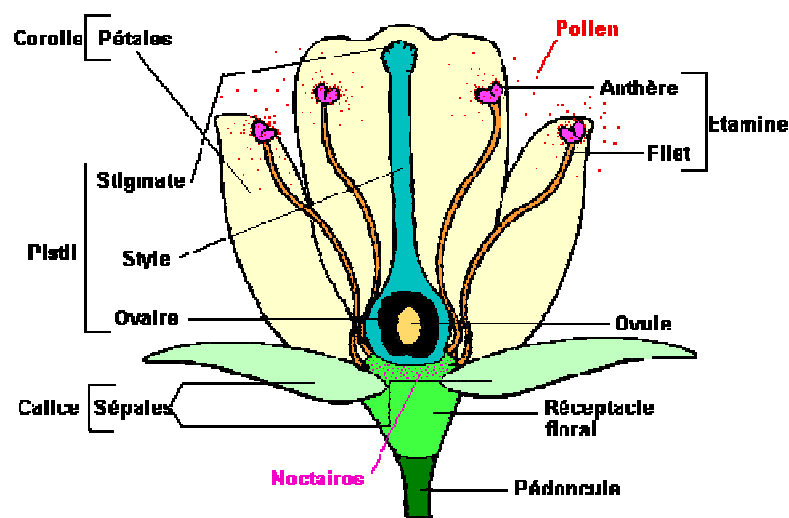


Figure N°3 : La structure d'une fleur (Anonyme, 2008)

1.8. Rôle de l'abeille dans la pollinisation

La pollinisation est le transport du pollen d'une étamine (organe mâle) sur un stigmate (organe femelle). En butinant les fleurs, les abeilles agissent en agent de fécondation des plantes. Les abeilles jouent un grand rôle dans la reproduction des plantes entomophiles, car elles représentent un facteur de pollinisation de près de 95%. Le mécanisme est assez simple. Les abeilles attirées par le nectar des fleurs, se frottent aux étamines, se couvrant les poils de pollen. C'est en visitant d'autres fleurs aux organes femelles matures que les abeilles mettent le pollen dont elles sont couvertes en contact avec le pistil, permettant la fécondation. L'importance de l'abeille pour l'humanité se situe beaucoup moins dans sa faculté de nous fournir du miel et d'autre produit de la ruche, mais essentiellement dans son rôle pollinisateur (Meyer, 1984).

Dans une journée, une abeille domestique peut butiner 700 fleurs en moyenne. Si l'on multiplie 20 000 butineuses d'une même ruche, c'est 14 millions de fleurs qui sont visitées

quotidiennement. A l'échelle d'un rucher de 5 colonies, on atteint 70 millions de fleurs visitées par jour (Clement,2006).

D'après VAISSIERE(2006), beaucoup d'espèces végétales dépendent largement et exclusivement des abeilles pour leur fécondation comme l'aubépine, églantier, merisier genet, et aussi des espèces pérennes herbacées. Seul les abeilles, en réalisent cette pollinisation croisé contribuent à réduire les risques de dégénérescence par consanguinité, elle assurent donc la survie de très nombreuse espèces végétales et de tout le cortège de vie sauvage (oiseaux, rongeur, mammifères).

1.8. Relation entre l'abeille et les plantes à fleurs

Les abeilles dépendent exclusivement du monde végétal pour leur alimentation. Le nectar, le miellat et le pollen constituent les trois aliments essentiels de la colonie. Le miellat, déjection sucrée d'origine animale (pucerons, cochenilles, etc.), peut aussi parfois représenter une source de nourriture non négligeable. Indépendamment de ces trois aliments, un autre produit végétal est également récolté; il s'agit d'une substance résineuse qui sert, entre autres, à l'aménagement de l'habitat de la colonie : la propolis. En contrepartie, les plantes à fleurs bénéficient généralement du transport du pollen.

La pollinisation est ainsi assurée, elle permet la fécondation des ovules qui pourront se transformer en graines. Par la même occasion, la formation des fruits sera possible. Les relations entre les plantes à fleurs et les insectes butineurs, et donc les abeilles, sont par conséquent très étroites.

Divers paramètres influencent l'attractivité de ces plantes vis-à-vis de l'abeille. Les conditions du milieu et le fonctionnement biologique de la plante vont en particulier être déterminants. Dès lors, on peut considérer que les principales plantes mellifères régulièrement visitées par les abeilles sont au nombre d'une bonne centaine. Et parmi celles-ci, il ne reste plus qu'une trentaine de plantes qui peuvent participer significativement à une miellée ou à un apport conséquent de pollen. En raison de ces éléments, la pratique de l'apiculture mérite nécessairement une connaissance élémentaire des plantes apicoles, de leur physiologie (nature et qualité de leur production nectarifère et pollinifère) et de leur écologie (répartition des plantes, influences des facteurs de l'environnement). (Mellin, 2009)

1.10. La récolte du pollen par l'abeille



Figure N°4 : l'abeille récolte le pollen (Blanc ,2010)

1.10.1. Le mécanisme de récolte du pollen par les abeilles

Ce sont les jeunes butineuses qui sont en principe chargées de la récolte du pollen. Leur objectif est d'amasser le pollen en boules pour pouvoir le rapporter à la ruche. Le processus de récolte du pollen par l'abeille se fait en deux phases :

- **La première phase :** l'abeille butineuse travaille les parties mâles de la fleur (les anthères), avec ses mandibules pour en faire tomber de plus ou moins grandes quantités de pollen sur tous son corps, pendant ce temps Elle agglomère les grains avec un peu de nectar et de salive et forme une pelote qu'elle fixe sur la corbeille de ses pattes postérieures. Cette intense activité assure une parfaite pollinisation des plantes.
- **La deuxième phase :** l'abeille s'élève au-dessus de la fleur et commence à nettoyer son corps, la deuxième paire de pattes récolte le pollen qui se trouve sur le thorax et la région ventrale, et reçoit aussi le pollen des pattes antérieures. Avec les brosses des premiers articles du tarse de la première paire des pattes, l'abeille ramasse le pollen qui est sur sa tête et dans la région du cou. Par des mouvements parallèles rapides, le pollen passe de la brosse d'une patte postérieure au peigne à pollen de l'autre patte. En même temps, la masse de pollen enlevée par le peigne à pollen est poussée en petites quantités par le poussoir à pollen en haut et à l'extérieur dans la corbeille à pollen, la corbeille est une cavité comprenant un gros poil sur le fond, autour duquel s'agglomère les grains de pollen. Quand suffisamment de pollen est entassé dans une corbeille, cela constitue une pelote (Darrigol, 2007).

Afin d'arriver à une récolte significative, l'abeille va de fleur en fleur et continue jusqu'à ce que les boules soient assez grosses pour être rapportées. De retour

à la ruche, elle dépose ce pollen dans des alvéoles de garde-manger. Le pollen est stocké au plus près du couvain car il entre prioritairement dans l'alimentation des larves. Il est pour l'abeille la nourriture de croissance, alors que le miel issu du nectar est sa nourriture à l'âge adulte.

L'évolution de la récolte du pollen au cours de l'année dépend nécessairement de l'environnement floral. Les saules et les arbres fruitiers sont les principales espèces qui contribuent à la récolte de printemps. Celle-ci représente d'ailleurs la moitié du poids de pollen récolté sur l'année. (Melin, 2002).

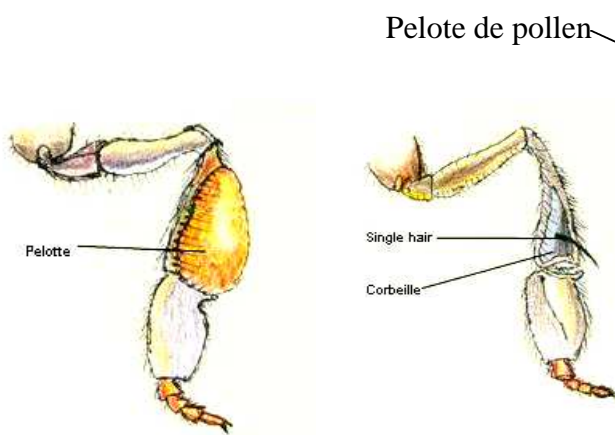


Figure N°6 : Abeille butinant dans une fleur

Figure N°7: la patte postérieure de l'abeille ouvrière (ANONYME, 2008)

2.1. Production du pollen**2.1.1. Récolte du pollen par l'apiculteur**

La récolte du pollen est une opération délicate qui doit être suivie avec attention. Le pollen sera récolté lorsque l'apport est important, c'est-à-dire par une journée de printemps chaude, à partir d'une ruche forte, où la population est importante, afin de diminuer les impacts négatifs sur la ruche.

La récolte du pollen par l'homme (apiculteur) est effectuée par une trappe à pollen déposée à l'entrée de la ruche. Il existe une multitude de trappes à pollen toutes basées sur le même principe : l'abeille chargée de pollen est obligée, pour pénétrer dans sa ruche, de traverser une grille métallique ou une plaque perforée qui arrête, en partie, les pelotes sur ses pattes postérieures. Ces pelotes détachées lors du passage, sont recueillies dans un tiroir auquel les abeilles ne peuvent accéder (**Jean-Prost, 2005**).

2.1.2. Description d'une trappe à pollen

Selon **Prost et le conte (2005)**, toutes les trappes destinées à la récolte du pollen se caractérisent par trois parties essentielles :

- ❖ Le grillage piège : grille verticale en plastique perforée ayant un diamètre 4,5 à 5 mm correspond au diamètre de l'abdomen de l'ouvrière.
- ❖ Un grillage de séparation : tamis horizontal en acier inoxydable à mailles de 3mm laisse passer le pollen dans le tiroir et empêche le contact entre le pollen et l'abeille.
- ❖ Tiroir (bac à pollen) placé sous la grille : il est destiné à recevoir les pelotes de pollen qui se détachent des pattes de butineuses. Il est en bois ou en métal, son fond plein est plat ou concave.

2.1.3. Principe de fonctionnement de la trappe à pollen

De nombreux modèles de trappe à pollen existent mais leur principe est toujours identique: l'abeille traverse un peigne qui va retenir (en partie) les pelotes de pollen rapportées. Celles-ci vont alors tomber au travers d'une grille dans un bac de réception. Les modèles varient en fonction de leur position : au trou de vol (Figure N°8), intégré dans le plancher (Figure N°9) ou sur le haut de la ruche (très rare). Certains modèles permettent une

entrée et une sortie des abeilles séparées. Les trappes de plancher nécessitent des supports spécialement adaptés pour permettre le retrait des bacs. Les producteurs de pollen réguliers opteront souvent pour une trappe intégrée de ce type. Il est également possible en cas de planchers rehaussés d'utiliser des peignes horizontaux. Ils sont complexes et coûteux mais permettent d'éviter l'engorgement. Les trappes extérieures seront utilisées par les apiculteurs qui récoltent de façon plus occasionnelle (Etienne, 2011).

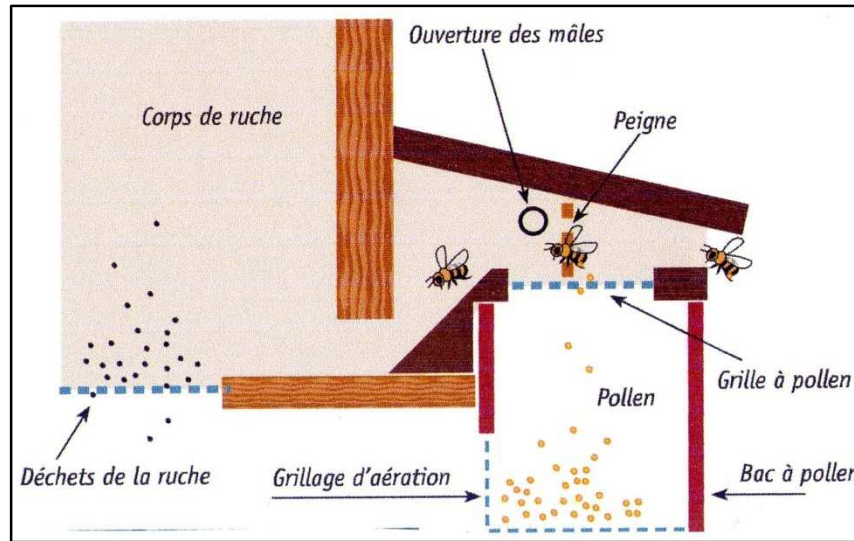


Figure N°8: Trappe d'entrée (Etienne, 2011)

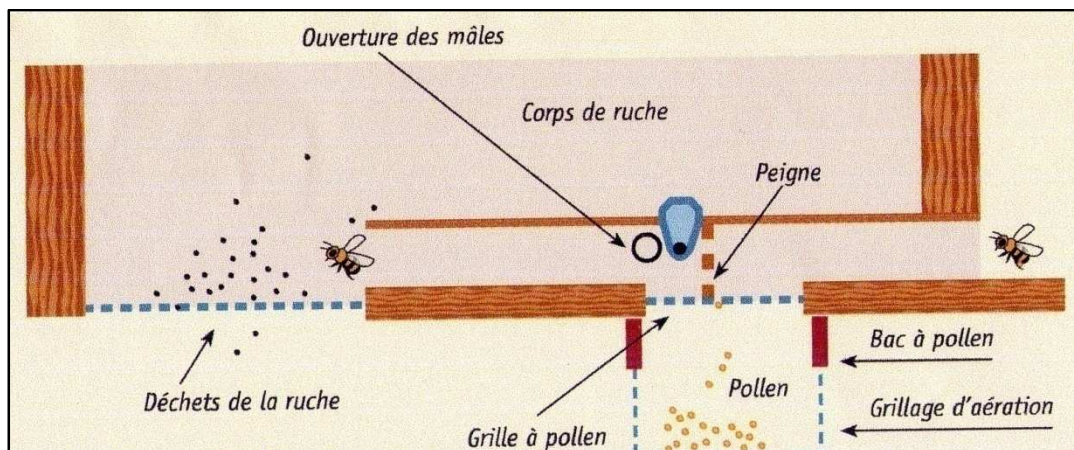


Figure N°9 : trappe de plancher (Etienne, 2011)

2.2. La 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**) (voir aussi composition chimique). Cette humidité est un milieu idéal de culture 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)** proposent que le produit soit récolté quotidiennement et immédiatement placé à la congélation pour tuer les insectes.

2.2.1. La conservation par déshydratation

Trois opérations successives préparent la conservation par déshydratation du pollen, ce sont le séchage, le triage, et le stockage.

a) Le séchage

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**). Un contenu en eau supérieure à 6% peut permettre au pollen de fermenter au cours du stockage (**Bogdanov, 2004**). Le temps du séchage doit être le plus court possible afin d'éviter les pertes des constituants volatils (**Bogdanov, 2004**).

b) Le triage

Le plus souvent, les pelotes de pollen récolté par les abeilles contiennent des impuretés telles que des fragments d'insectes, poussière, morceaux de bois, de plantes... Pour obtenir un produit de qualité, ces impuretés doivent être éliminés par l'air au moyen d'un purificateur spécial, dans lequel, l'air doit être exempt de bactéries et de poussières (**Bogdanov, 2004**).

c) Le stockage

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**). Le pollen doit être 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**).

2.2.2. Conservation du pollen par congélation

La congélation simple pourrait suffire pour avoir la garantie de l'activité du pollen. L'utilisation de l'azote évite la fermentation du pollen lors de transport vers le client ; celui-ci peut alors conserver ce pollen de nouveau au congélateur afin de pouvoir le consommer progressivement (**Prost et le Conte, 2005**).

Une congélation de pollen suivie d'un stockage sous azote pur à -20°C garantie 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 (**Campos et al., 2008**).

Ce mode de traitement maintient le pollen dans un état très proche de l'état naturel, et sa valeur nutritive demeure excellente (**Cherbuliez, 2001**).

Cependant, la congélation présente l'inconvénient que le pollen doit subir un nettoyage manuel, afin d'éviter l'écrasement des pelotes, qui à l'état frais présentent une certaine fragilité. Par ailleurs, ce mode est économiquement coûteux, vu l'exigence du pollen congelé au froid durant toute sa durée d'entreposage.

2.3. Qualité du pollen récolté par les abeilles

La qualité du pollen (en pelotes) récolté par les abeilles n'est pas encore standardisé en tant que produit alimentaire dans la plupart des pays du monde, 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 al 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 des pollens obtenus par des expériences effectués 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.

2.3.1. Critères de la qualité du pollen

Les critères de qualité sont chimiques, microbiologiques et sensoriels.

2.3.1.1. Critères chimiques

Comme critères chimiques de qualité, **Bogdanov (2004)** propose le contenu en protéines, lipides minéraux, fibres, hydrates de carbones et en vitamines (Tableau N°2).

Tableau°2 : Critiques 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>
Hydrate de carbone	13-55
Protéines	10-40
Lipides	1-10
Fibre	0,3-20
<u>Composants mineurs</u>	<u>mg/100g</u>
Minéraux	500-3000
Vitamines	20-100
Flavonoïdes	40-3000

2.3.1.2. 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 (Tableau N°3).

Les pratiques d’hygiène relative à la préparation du produit doivent répondre aux règlements sanitaires exigés pour un produit GPM dans l’industrie alimentaire (**Campos et al., 2008**).

Tableau N°5 : Contaminants microbiologiques du pollen récolté par l’abeille.

Contaminants microbiologiques	
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 critère macroscopique et microscopique, le pollen ne doit contenir aucune substance étrangère exceptée la présence accidentelle de fragments d'abeilles, bois, plante et autre matières inhérentes au processus de récolte du pollen par les abeilles (**Campos et al., 2008**).

2.3.1.3. 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 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.

2.3.2. Contamination du pollen

Bien qu'il soit le produit de la ruche le moins influencé par les contaminants de l'apiculture (**Campos et al., 2008**), le pollen peut être contaminé par plusieurs contaminants de sources différentes en particulier l'environnement (**Bogdanov, 2006**). Les principaux contaminants du pollen sont les métaux lourds tels que le cadmium, la plombe et le mercure ; ainsi que les pesticides (insecticides, fongicides, herbicides et bactéricides) (**Kubik et al., 1999 ; Bogdanov, 2006 ; Chauzat, 2006**). Pour une qualité optimale, le pollen doit être produit dans des secteurs d'au moins 3km plus loin des sources de contamination telle que les zones agricoles où la circulation des pesticides est considérable (**Bogdanov, 2004**) ; La teneur (en mg/kg) maximale autorisée des métaux lourds est : 0,1 pour le cadmium (Cd) ; 0,5 pour le plomb (Pb) et 0,03 pour le mercure (Hg) (**Campos et al., 2008**).

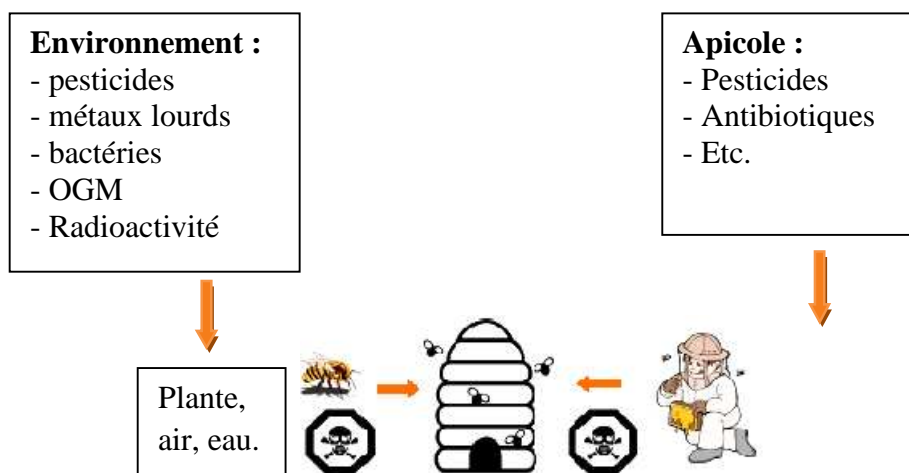


Figure N°10 : Différentes sources de contamination de la colonie d'abeilles (**Bogdanov, 2006**)

2.4 .Vole économique

2.4.1. Qualité et réglementation

La qualité des produits apicoles dépend principalement de la production dans la ruche et l'apiculteur joue à ce titre un rôle clé, La taille de la colonie et l'époque choisie pour les récoltes sont des facteurs déterminants.

Les diverses opérations récoltes, extraction, autres transformations, stockage ne peuvent améliorer la qualité ; elles peuvent en revanche la détériorer. Les transformations peuvent cependant jouer sur la conservation du produit. La qualité d'un produit transformé diminue dans la mesure où le produit perd en fraîcheur a(**Fondation Agromisa et CTA, Wageningen, 2005**).

Le pollen ou les pelotes de pollen doivent être séchés le jour suivant la récolte et stockés dans un endroit sec et sombre pour conserver toutes leurs vertus. La composition nutritionnelle et la valeur calorique sont indiquées en grammes par 100 grammes de pollen (en pourcentage donc) après séchage. Avec le séchage, le taux d'humidité passe en moyenne d'environ 25% (frais) à moins de 12%. Il doit être par ailleurs débarrassé d'autres substances comme les opercules de cire et les débris du sol de la ruche.

Le pollen doit toujours être bien séché pour éviter la formation de moisissures et doit être totalement exempt de trace d'aflatoxines, une substance produite par certaines moisissures. Le pollen récolté sur des plantes traitées peut aussi contenir des résidus de pesticides. D'autres substances poudreuses comme la farine de manioc sont également récoltées par les abeilles. Le producteur doit donc faire attention à la teneur en contaminants de cette sorte. (**Fondation Agromisa et CTA, Wageningen, 2005**).

2.4.2. La commercialisation

Les facteurs clés de la commercialisation des produits apicoles sont la qualité, la continuité et la pérennité. La qualité est la toute première exigence. Quand la qualité du produit est bonne, il est probable que le consommateur reviendra s'approvisionner chez le même producteur, même si les prix sont plus intéressants ailleurs. Les meilleures conditions pour optimiser la production sont : la récolte, le transport, le stockage, la transformation et le conditionnement.

3.1. Echantillonnage

3.1.1. Prélèvement, nettoyage et conservation des échantillons

Le pollen d'abeilles frais (sous forme de pelotes) est récolté au moyen des trappes à pollen installés sur des ruches Langstroth, dans un rucher situé dans la région de Naciria, à une altitude d'environ 500-600 m. Quatre échantillons ont été prélevés : E1 ; E2 ; E3 ; E4. Les échantillons sont par la suite nettoyés pour éliminer les différentes impuretés (débris d'abeilles, résidus de nettoyage de l'intérieur de la ruche par les abeilles). Enfin, chaque échantillon est mis dans un bocal en verre et conservé au congélateur.

3.1.2. Triage selon la couleur du pollen butiné par les abeilles

Chaque échantillon de pollen récolté a fait l'objet d'un triage, selon la couleur, en différents types. Le poids de chaque type de pollen permet de calculer sa proportion dans le mélange. Les couleurs sont identifiées en se référant à une table de couleur étalon (Annexe 12). Chaque type de pollen est conditionné à part dans un bocal en verre, et conservé au congélateur.

3.2. Poids de 100 pelotes

Sur chaque type de pollen récolté (selon la couleur), le poids de 100 pelotes a été mesuré.

3.3. Les analyses physico-chimiques

3.3.1. La teneur en eau

Principe

La teneur en eau consiste en un étuvage d'un échantillon d'un gramme à 105 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Human et al., 2006).

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 :

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

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 :

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - \text{H \%}$$

3.3.2. Le pH

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

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.

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.

3.3.3. La teneur en cendres

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

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 de cendres blanchâtres de poids constant.

Méthode

1 g de pollen, mis dans une capsule en porcelaine, est placé dans un four à moufle réglé à 600 ± 15 °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 :

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

Où :

M₁ : Masse de la capsule plus la prise d'essai ;

M₂ : Masse de la capsule plus cendres ;

P : Masse de la prise d'essai.

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

$$\text{Cn (\%)} = 100 - \text{MO (\%)}$$

3.3.4. 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'origine végétale, c'est le cas du pollen.

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.

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 l'obtention d'un liquide homogène. Le contenu de la fiole conique est transvasé quantitativement dans une fiole jaugée de 25 ml et complétée 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 bécher, sont titrés avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N et en présence de 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 :

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

Soit :

M : Masse, en gramme de pollen prélevé ;

V₀ : Volume en millilitres de la prise d'essai (10 ml) ;

V₁ : Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1 N utilisé.

3.3.5. Teneur en composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux du pollen est estimée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Décrit par (Moreira et al, 2008) .Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃W₁₀O₄₀P) et d'acide phosphomolybdique (H₃Mo₁₂O₄₀P) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxyde bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 700 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques (Riberceau-Gayon, 1972).

a. Préparation de l'extrait méthanolique du pollen (EMP) :

La préparation de l'EMP est réalisée selon la procédure décrite par (Moreira et al., 2008). 5 g de pollen d'abeille est mélangé avec 10 ml 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.

b. Dosage des composés phénoliques totaux :

Mode opératoire

Dans un tube à essai, 0,5 ml d'extrait méthanolique du pollen est dilué dans 9 ml de méthanol auquel est ajouté 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 0,5 ml de Na_2CO_3 . Le tube est laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 1 h, après quoi l'absorbance est lue à 700 nm.

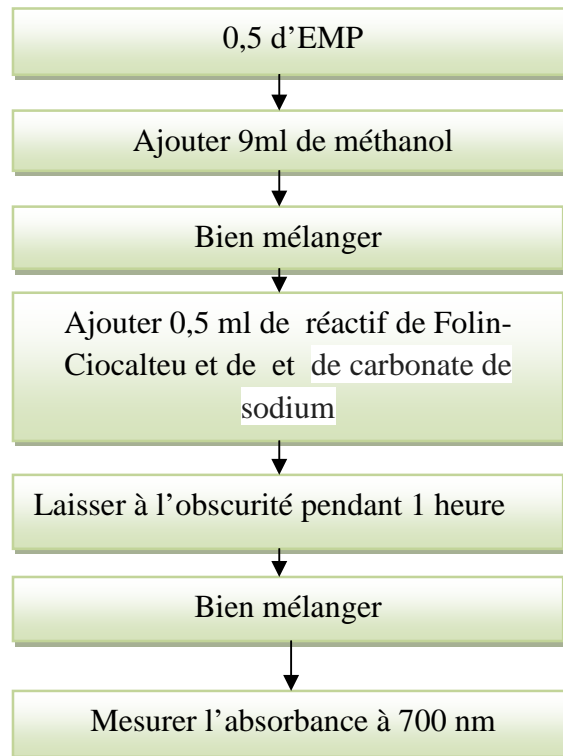


Figure N° 13 : Etapes du dosage des polyphénols totaux de l'extrait méthanolique du pollen (Kumazawa et al., 2004).

c. La courbe d'étalonnage d'acide gallique

La quantification des poly-phénols est faite en se basant sur une courbe d'étalonnage linéaire ($\text{Abs} = a C + b$). Cette courbe est établie par l'usage des solutions de concentrations croissantes d'acide gallique. A cet effet, les solutions étalons de l'acide gallique sont préparées par la même méthode que l'échantillon. Le blanc préparé ne contient pas de l'EMP, contre lequel sont faites les lectures dans le spectrophotomètre.

La préparation de la gamme d'étalonnage est faite de la façon suivante : 0,0013 g d'acide gallique sont dissous dans 100 ml de méthanol, soit une solution (S1) avec une concentration de 0,13 mg/ml (solution mère).

Tableau N°3 : Préparation des dilutions de l'acide gallique (GA) pour la réalisation de la courbe d'étalonnage des poly-phénols totaux.

Solution	S5	S4	S3	S2	S1
[AG] mg/ml	0	0,03	0,06	0,1	0,13
$C_1V_1 = C_2V_2$ (ml) V Solution	0	1,15	2,3	3,84	5
Méthanol	0	3,85	2,7	1,16	5

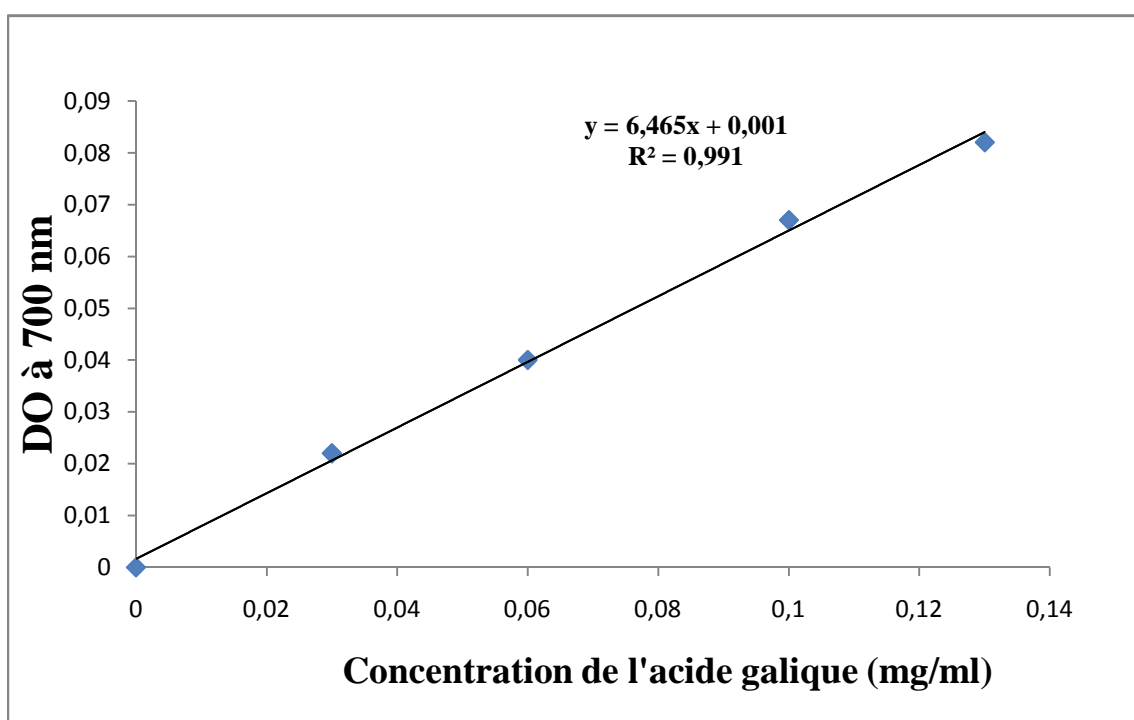


Figure N°14 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des poly-phénols totaux.

3.3.6. Activité antioxydante

Mode opératoire

0,1g de pollen frais, de chaque type, a été dissous dans 5 ml d'eau distillée pour former la solution mère (SM). Ensuite, une série de quatre tubes à vis, dans chacun on met 1 ml de la SM, 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 et le verser 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 de 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 dans un spectrophotomètre, à 695 nm.

a) courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

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 décroissantes ont été préparées pour élaborer une courbe d'étalonnage.

Tableau N°4 : Préparation des dilutions de l'acide ascorbique pour la réalisation de la courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante.

Solution	S5	S4	S3	S2	S1
[A A] g/ml	0	0,02	0,04	0,08	0,1
$C_1 V_1 = C_2 V_2$ (ml) V Solution	0	2,2	4,4	8,8	10
Eau distillé (ml)	10	7,8	5,6	1,2	0
	10	10	10	10	10

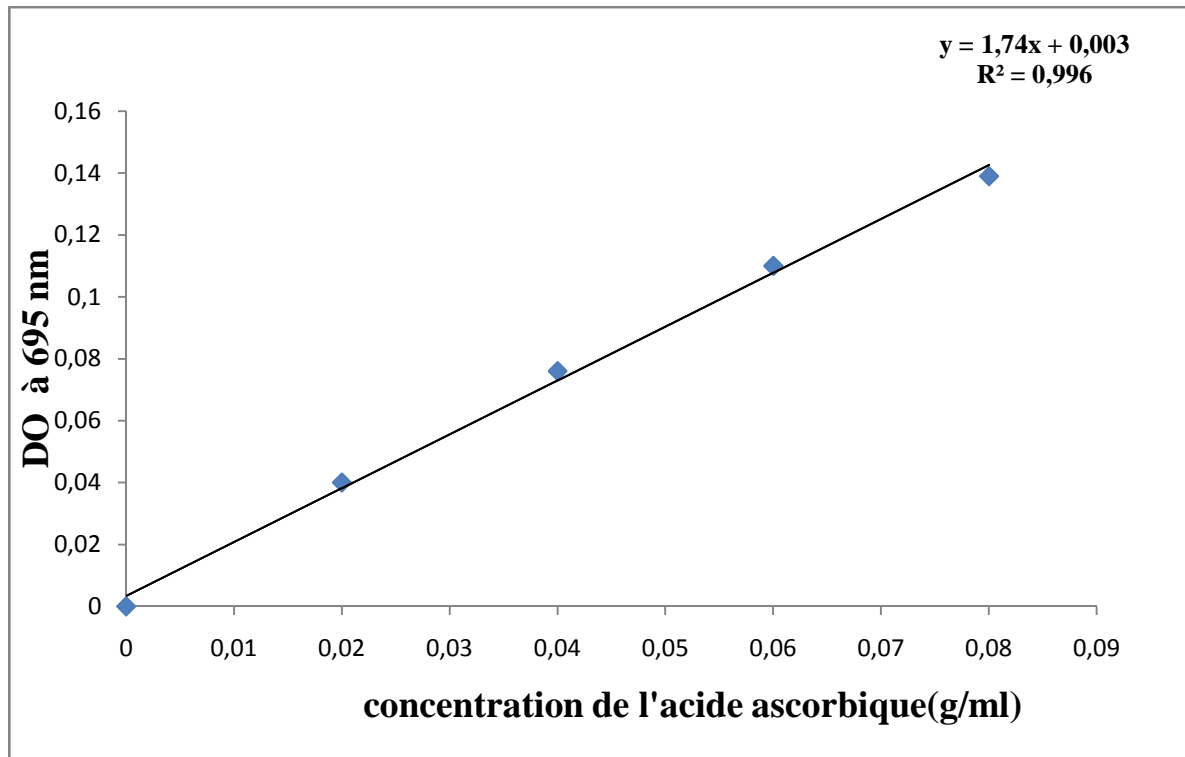


Figure N°15 : Courbe d'étalonnage pour l'activité antioxydante.

4. Résultats et discussion

4.1. Triage par couleur du pollen étudié

Une pelote représente l'exploration d'une centaine de fleurs (Wennig, 2003). Les abeilles visitent plusieurs plantes pollinifères pour confectionner des pelotes de grains de pollen, ce dernier est un mélange de plusieurs types (selon la couleur) et qui dépend des espèces végétales butinées. Les différents types de pollens récoltés par les abeilles dans la région de Naciria peuvent nous renseigner sur la diversité florale de cette région, mais aussi sur la richesse nutritionnelle du pollen récolté. Ce type de pollen est polyfloral à la différence de pollen monofloral. Les proportions des différents types de pollens sont illustrées sur la figure N°16 : Brun (51,89%) ; Orange (12,36%) ; Marron (12,02) ; Vert olive (23,73). La dominance de la couleur brune signifie l'abondance d'une espèce mellifère pourvoyeuse de ce type de pollen. La quantité du pollen butiné par l'abeille peut être différente d'une journée à une autre, et du matin au soir pour la même journée. Les conditions climatiques ont aussi une influence importante sur la quantité et le type de pollen récolté et donc sur le nombre d'espèces butinées.

Selon Luz et al., 2010, les pelotes de la même couleur appartiennent à la même famille, le type de pollen peut varier selon la région d'où il est issu et selon la saison de la végétation, et les conditions climatiques.

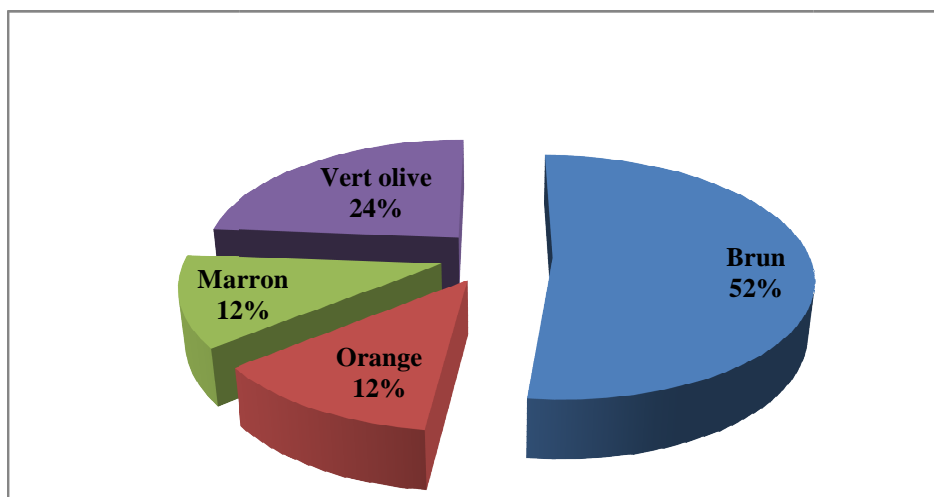


Figure N°16 : Les proportions (%) de différents types de pollens étudiés

4.2. Poids de 100 pelotes

Le poids de 100 pelotes séparées à partir des échantillons de quatre types de pollen frais, est donné dans le tableau N°6

Tableau N°6 : Le poids de 100 pelotes des différents pollens étudiés

Echantillons	Poids de 100 pelotes (g)		Moyenne
	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	
E1 : Brun	0,9	0,88	0,89
E2 : Orange	0,82	0,8	0,81
E3 : Marron	0,65	0,68	0,66
E4 : Vert olive	0,71	0,74	0,72

D'après les résultats représentés dans le tableau N°6 on constate une variation du poids de 100 pelotes d'une moyenne entre 0,66g à 0,89g, (brun) 0,89 g, (orange) 0,81, (marron) 0,66g et (vert olive) 0,72 g. Ces résultats sont proches de ceux trouvés par **Margarida Morais et al., (2011)**.

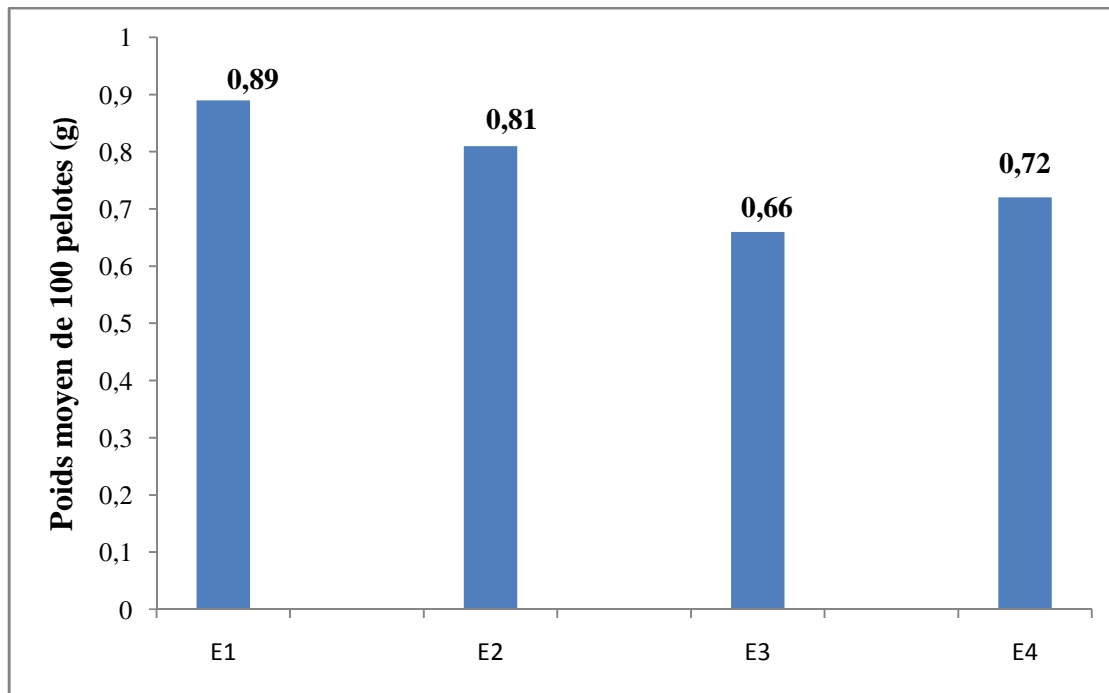


Figure N° 17 : Poids moyen de 100 pelotes(g) des différents échantillons du pollen

4.3. Les analyses physicochimiques des différents types de pollen frais

4.3.1. La teneur en eau

La teneur en eau du pollen frais peut atteindre jusqu'à 50 % (**Roulston et al., 2000b**). Les teneurs en eau des types de pollen analysés varient de 19,4 à 22,85 % : brun (22,85%), vert olive (22,54%), marron (21%) et orange (19,4%). Ces résultats sont inclus dans la fourchette des résultats obtenus par **Smaili et Cherfa, (2012)**, étudiant le pollen de la même région, et dont les valeurs varient de 18,11 à 36,82%. La variation du taux d'humidité des différents types de pollen peut être liée à son origine florale. Par ailleurs, et selon **Bogdanov (2004)**, les taux d'humidité élevé du pollen frais et sa richesse en nutriment le prédispose à devenir un milieu de culture idéal aux microorganismes. Ainsi, pour préserver cet aliment des altérations microbiennes il est recommandé d'appliquer, soit un séchage, pour ramener son humidité à environ 5%, ou de le conserver à une température de congélation.

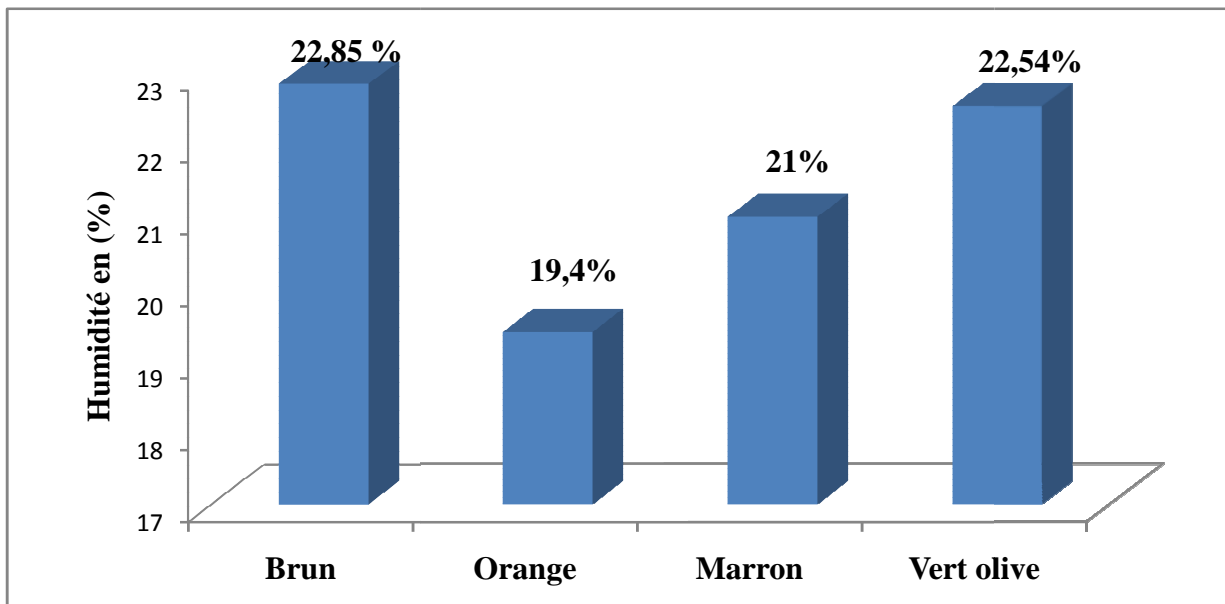


Figure N°18 : Teneur en eau (%) de quatre types de pollens étudiés

4.3.2. Le pH

Sur le pollen polyfloral, Herbert et al., (1978) ont trouvé des valeurs de pH variant de 4 à 6. Dans la présente étude, les valeurs de pH des échantillons de pollen frais varient respectivement de 4,86 à 6,03 et de 5,01 à 5,09. Dans deux études précédente sur le pollen de la même région que la nôtre, **Amzal et Bekouche, (2013)** ont trouvé des valeurs de pH oscillent entre 5,21 à 6,20, cependant **younsi et Lazizi, (2016)** ont enregistré des valeurs varient de 5,08 à 5,95.

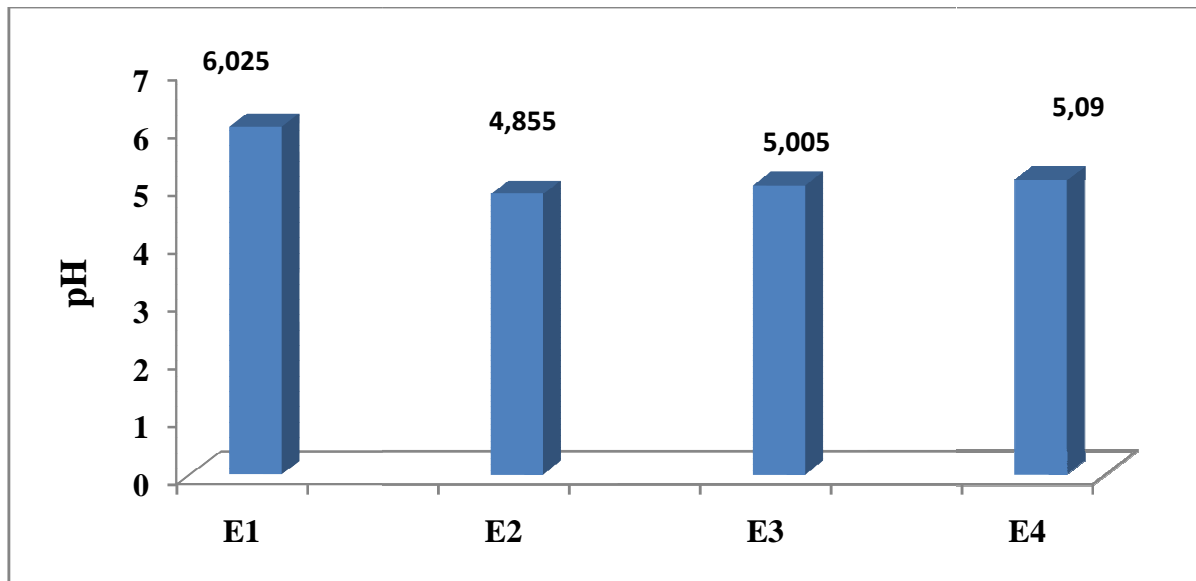


Figure N°20 : Les valeurs moyennes du pH des différents échantillons du pollen

La figure N°20 montre des valeurs moyennes du pH très proche entre les échantillons de pollen analysés, les valeurs des écarts types révèlent des fluctuations importantes entre les échantillons. Cette fluctuation peut être relié principalement à l'origine botanique des différents pollens.

4.3.3. Le taux de cendres

Le taux de cendres des différents types de pollens sont présentées sur la figure 21. Ces taux varient de 1,79 à 2,49% : le brun (2,28%) ; vert olive (2,49%) ; marron (1,75%) ; orange (2,13%). Ces résultats sont proches de ceux trouvés par **younsi et Lazizi (2016)**, dont les valeurs varient de 1,7 à 2,9%, et par **Bell et al., (1983)** qui ont enregistré des taux oscillant entre 1,7 à 3,2%.

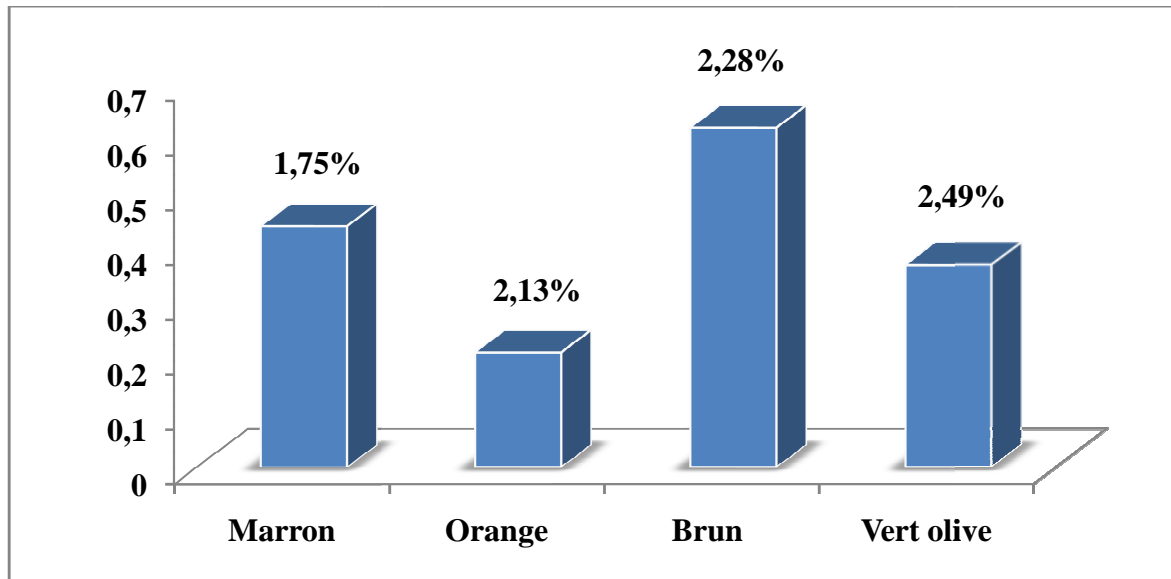


Figure N° 22 : Taux de cendre (%) des différents types de pollens étudiés

4.3.4. Acidité titrable :

L'acidité titrable est due aux acides organiques présents naturellement dans le pollen, tel que l'acide lactique (Gilam, 1990). La figure N°23 montre que l'Acidité titrable des différents types de pollens varie entre 4,5 à 14,6 meq g NaOH /100 g : brun (4,5), orange (14,6), marron (12) et vert olive (10). Cette variation du taux d'acidité titrable peut s'expliquer par l'origine florale du type de pollen butiné. Nos résultats sont inclus dans la fourchette des résultats obtenus par Younsi et Lazizi (2016) ayant étudié le pollen de la même région, et dont les valeurs enregistrées varient de 6 à 19 (meq g /NaOH).

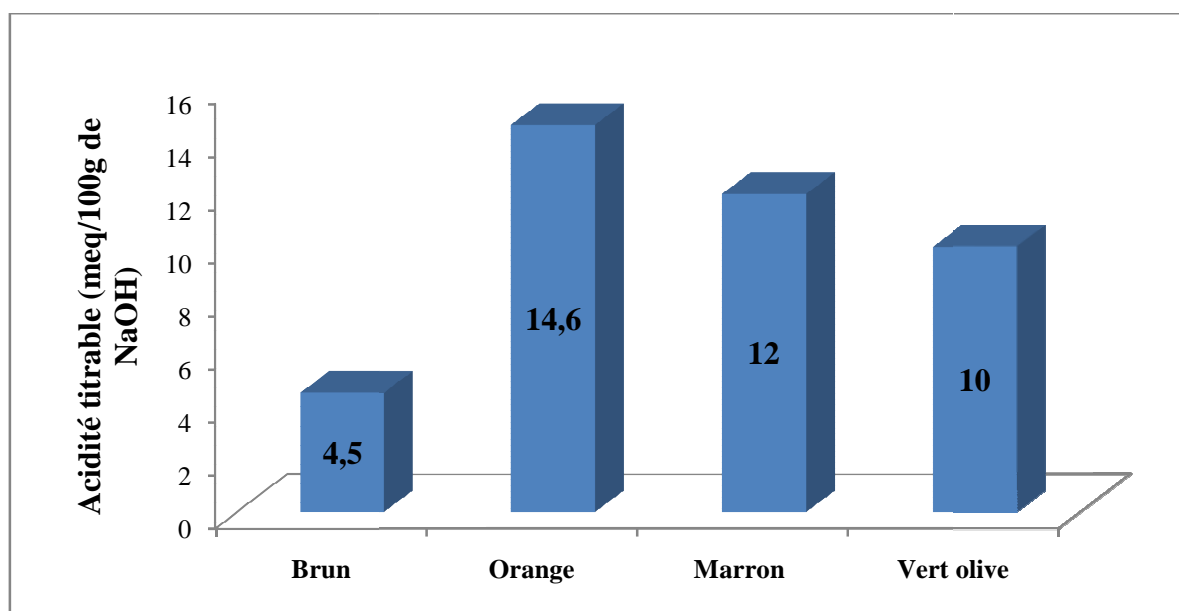


Figure N°23 : Les valeurs de l'acidité titrable (meq g NaOH/kg) des différents types de pollens étudiés

4.3.5. La teneur en composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. La capacité élevée des constituants phénoliques à neutraliser les espèces actives de l'oxygène est fortement associée à leur structure, surtout les doubles liaisons conjuguées et le nombre de groupes d'hydroxyle dans le cycle aromatique, la plupart du temps attribuée aux flavonoïdes (SILVA et al, 2000).

La teneur en composés phénoliques des quatre types de pollens varie de 3,6 à 11,2 mg/kg, en équivalent acide gallique. Selon la couleur du pollen récolté, les teneurs en composés phénoliques obtenues sont les suivantes : Marron (11,2 mg/kg), orange (6,4 mg/kg), vert olive (5,2 mg/kg), brun (3,6 mg/kg). Kroyer et Hegedus (2001) ont trouvé des valeurs oscillant entre 7,4 mg à 9,7 mg/kg. Dans une autre étude sur le pollen récoltés dans différentes régions au Portugal, Morais et al., (2011) ont enregistré des teneurs variant de 10,5 mg/g à 16,8 mg/kg. Selon Carpes et al., (2007) la variation de la teneur en composés phénoliques varie selon l'origine botanique du pollen et qui varie aussi en fonction du solvant d'extraction.

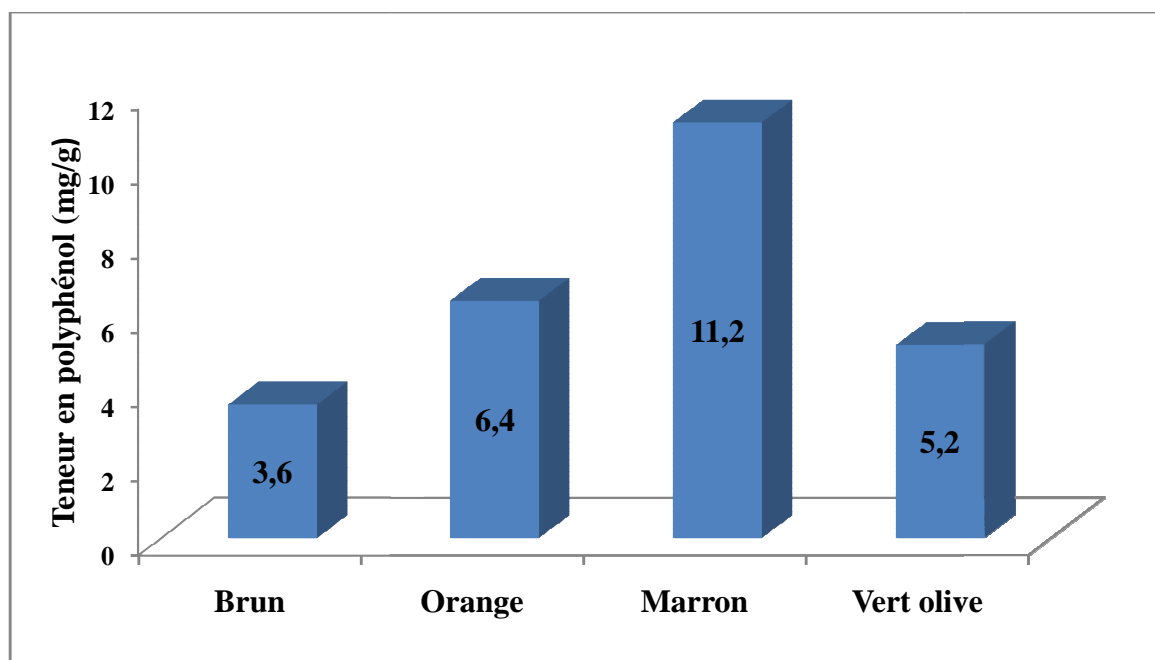


Figure N° 24 : Teneur en polyphénols totaux (mg /g) des quatre type de pollens étudiés

4.3.6. L'activité antioxydante

Récemment, beaucoup d'investigations sont menées pour déterminer les propriétés antioxydants de différents produits alimentaires.

La vitamine la plus importante dans les fruits et les légumes est la vitamine C (**Lee et al., 2000**). Elle est également connue sous le nom d'acide ascorbique. Elle aide le corps en formant les tissus connectifs, os, dents, vaisseaux sanguins et joue un rôle important comme antioxydant faisant partie du système de défense du corps contre les espèces réactives de l'oxydation et les radicaux libres, de ce fait elle empêche l'endommagement des tissus. Elle est largement utilisée dans le traitement de certaines maladies telles que l'anémie, les désordres hémorragiques et autres dysfonctionnements (**Okiei et al., 2009**).

L'objectif de cette partie est de déterminer l'activité antioxydant des différents types de pollens frais, en équivalent acide ascorbique. Les résultats obtenus montrent des activités antioxydantes différentes entre les différents types de pollen étudiés (figure N°25) : les résultats obtenue varient entre 0,21 mg /g à 0,62 mg/g en équivalent acide ascorbique. Nos résultats corroborent ceux obtenus par **Roulston et al. (2000)** dont les valeurs s'étend de 0,152 à 0,640 (mg/g), et qui dépend fortement de l'origine botanique du pollen.

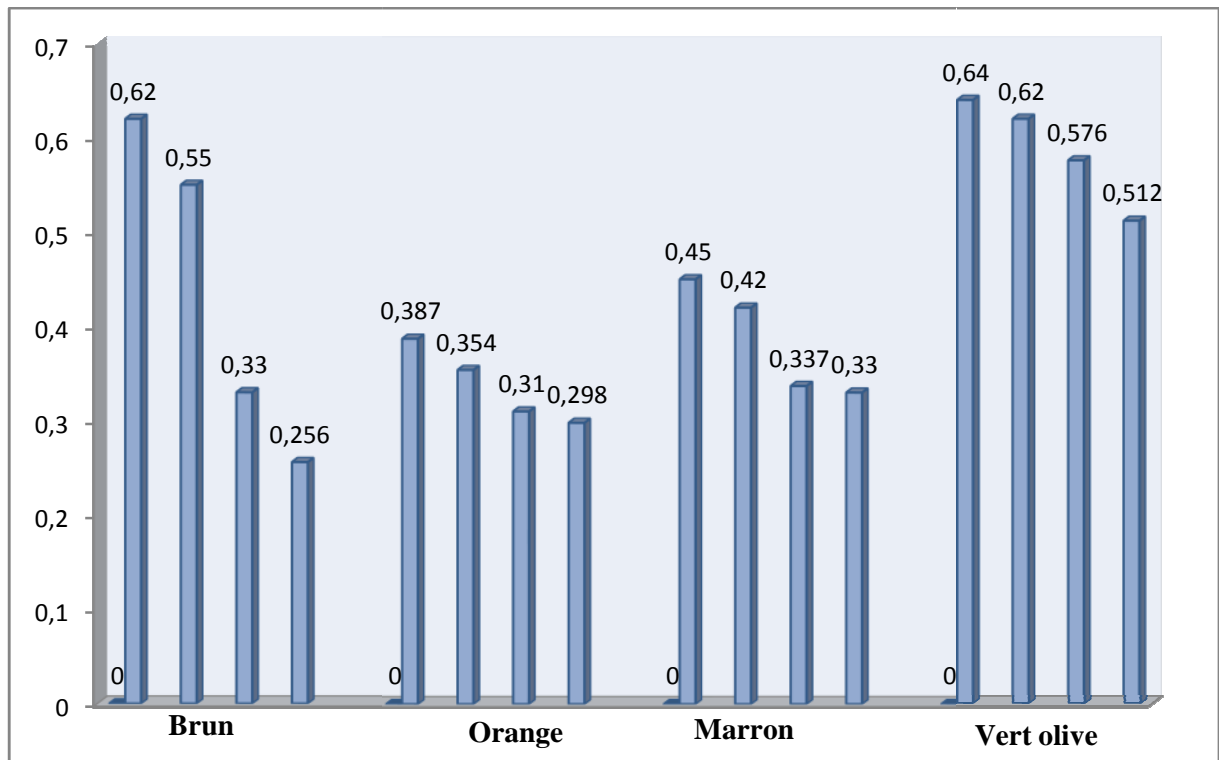


Figure N°25 : Activité antioxydants (en équivalent acide ascorbique mg/g) des différents types de pollens étudiés

Conclusion

Le pollen est l'aliment protéique de l'abeille. L'homme retire une partie de ce produit pour des besoins diététiques. Le pollen produit dans la région de Naciria est multifloral. Il est constitué d'un mélange de plusieurs types de pollens, de couleurs différentes provenant de diverses plantes apicoles. Cette récolte s'étale de la fin de l'hiver jusqu'au début de l'été. Durant cette période, une série de flores se succède témoignant des potentialités apicoles importantes de cette région à climat méditerranéen.

La teneur en eau du pollen étudié varie de 19 à 23%. Ce taux d'humidité dépend principalement des conditions climatiques et de l'origine florale du pollen. L'humidité du pollen frais est un facteur important pour le déclenchement du processus de dégradation de ce produit par l'action des agents biologiques tels que les enzymes et les microorganismes. L'application de la déshydratation à des températures ne dépassant pas 42°C ou de la congélation permet de préserver sa qualité.

L'acidité titrable et le pH varient respectivement de 4,5 à 14,6 (meq gNaOH/kg) et de 5 à 6. Ces deux paramètres peuvent évoluer car ils sont dépendants de la flore microbienne du pollen. Le taux de cendre du pollen est variable selon le type de pollen qui peut donc être relié à l'origine florale.

Le pollen est l'un des aliments les plus riches en polyphénols. Ces derniers jouent le rôle d'antioxydants, protégeant ainsi l'organisme du stress oxydatif. La consommation d'un pollen multifloral est une garantie d'un apport à l'organisme d'une forte dose d'antioxydants. La teneur en composés phénoliques est variable entre les différents types de pollens, le type marron est de loin le plus riche (11,2 mg/Kg).

L'activité antioxydante (équivalent g d'acide ascorbique) des différents types de pollen est variable : la plus élevée est enregistrée dans le pollen type vert olive et la plus faible dans le type orange.

Enfin, la richesse de la région du nord algérien d'une flore apicole très diversifiée constitue une opportunité aux apiculteurs de rentabiliser leurs projets par la production du pollen, et aux consommateurs d'en bénéficier de toutes ses vertus nutritionnelles et diététiques.

Références Bibliographiques

A

- ✚ **AFNOR (Association Française de Normalisation)**, NF ISO 17059, Graines oléagineuses. (2005). Extraction de l'huile et préparation d'esters méthyliques d'acides gras de triglycérides pour analyse par chromatographie en phase gazeuse (méthode rapide), VO3-935 PR, *AFNOR*, Paris, France.

- ✚ **ALMEIDA –MURADIAN ; PAMPELUNE LC ; COIMBRA. S (2005)**. Composition chimique et l'évaluation botanique de boulettes séchées pollen d'abeille. *Journal of Food Composition and Analysis*. Pp 105-111.

- ✚ **Amzal H., et Bekouche D (2013)**. Etude palynologique et physicochimique du pollen d'abeille de la région de Naciria (W Boumerdes).Thèse d'ingénieur technologie alimentaire .Université Mouloud Mammeri T.O.

- ✚ **ANDRADA K., ALEXANDRE F (2005)**. Pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from south of Calde district (Argentina): botanical origin and protein content. *Grana* v. 44, p. 1–8.

B

- ✚ **BARAJAS J.,CORTES-ROTRIGUEZ M. , SANDOVAL E (2012)**. Effet of temperature on drying process of bee pollen from two zone of colombia, *J food process eng* .134-148.

- ✚ **BELL. R; THPRNBER. J; SEET. J; GROVES. M (1983)**. Composition and protein quality of honeybee collected pollen of *Eucalyptus marginata*and *Eucalyptuscalophylla*. *Journal of Nutrition* N°113. Pp: 2479-2484.

- ✚ **BIRI M (2002)**. Le grand livre des abeilles. Cours d'apiculture moderne. Edition S.A. PARIS. 260 p.

- ✚ **BLANC M (2010)**. Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat pharmacie de Limoges. Faculté de médecine et de pharmacie, pp .24-29.
- ✚ **BOGDANOV S (2004)**. Quality and Standards of Pollen and Beeswax *APIACTA* .38,p. 334-341.
- ✚ **BOGDANOV S (2006)**. Contaminants of bee products. *Apidologie*, v. 37, p. 1–18.

C

- ✚ **CAMPOS. R ; BOGDANOV. S ; ALMEIDA-MURADIAN L.B ; SZCZESNAT ; MENCEBO. Y ; FRIGERIO. C.; FERREIRA. F (2008)**. Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apiculture Research* 47.Pp 156 -163.
- ✚ **CARAPE H.,RIEVANS CA(2007)** .Study of preparation bee pollen ,antioxydant and antibateryal activity pp 1818-1825).
- ✚ **CHAUZAT D (2005)**. L'importance du pollen pour l'abeille domestique. *Bult. Tech. Apic.* 32 (1) 11-17.
- ✚ **CHERBULIEZ. T (2001)** .CD – ROM. Apithérapie. Commission d'Apithérapie d'Apimondia.
- ✚ **CLEMENT D (2006)**.Apiculture intensive en ruche sédentaire .Edition baeille 113 P.
- ✚ **COMBRA.S(2005)** .Composition chimique et évolution botanique de boulettes séchées de pollen d'abeille. *Journal food composition and analysis.*18 pp 105-111

D

- ✚ **ETIENNE B (2011)**.Récolte du pollen en pelotes pp 17-18

- ✚ **DARRIGOL, JEAN-LUC. (2007).** Apithérapie : miel, pollen, propolis, gelée royale. Eddition Escalquens : Dangeles p 260.

F

- ✚ **FREDERIC B., ALEXIS D (2013).** Le miel : Origine et composition .Actualité pharmaceutique, Vol 52, pp 17-21.

G

- ✚ **GILAM (1990).** Microorganisms associated with pollen, honey, and brood provisions in the nest of a stingless bee, *Melipona fasciata*. *Apidologie*, v.21, p.89-97.

H

- ✚ **HERBERT ET SHIMANKI H (1998).** Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee stored pWEollen .*Apidologie*. Pp 9.33-40.

- ✚ **HUMAN H., NICOLSON S.W (2006).** Digestion of maize and sunflower pollen by the spotted maize beetle *Astylus atromaculatus* (Melyridae): is there a role for osmotic stock. *J. Insect. Physical* .N°49. Pp: 633-643.

- ✚ **HERBERT ET SHIMANKI H (1978).** Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie*. v. 9, p. 33-40.

- ✚ **HERBERT (1992).** Honey bee nutrition. In Graham, J. E (ed) *The hive and the honey bee*. *Dadant et Sons Inc.; Hamiton, llinois*, p. 197-233.

J

- ✚ **JEAN PHILIPPE B(2012).** Etude de la capacité antioxydant du pollen d'abeille .Thèse de doctorat agronomie .Thèse de doctorat de Bretagne occidentale PP 17-22.

- ✚ **JEAN PORST P., ME DORIN P. (2005).** Matière première .In apiculture, Lavoisier. (Eds), conte, paris, pp 161-183.

K

- ✚ **KALINOWSKI. (2005).** Pollen morphology and two-dimensional patterns Of pollen coat and protoplast proteins in *aegilops kotschyi secale cereale* amphiploids. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, v.47 (2), p. 97–110.

- ✚ **KELLER(2005)**. Station de recherche Agroscoop libefled-posieux ALP. Centre de recherche apicole, Liebefled, CH-3003 Berne.
- ✚ **G. KROYER_, N. HEGEDUS(2001)**. Evaluation of bioactive properties of pollen functional dietary food supplement *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2 Ž2001. 171_174
- ✚ **KRASSILOVE F., HALLIWELL B(2007)**. Pollen eaters and pollen morphology co-evolution thoughn the permian and Mesozoic. *African Invertebrats*, V.48(1), p 3-11.
- ✚ **KRELL R.(1996)**. Value-added products from beekeeping. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rom, PP 87-13 (FAO Agricultural Services Bulletin)
- ✚ **KUBIK I (1999)**. Pesticide residues in bee products collected from cherry trees protected during blooming period with contact and systemic fungicides. *Apidologie*, v. 30, p. 521-532.
- ✚ **KUMAZAWA et al., 2004**. Antioxydant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* v. 84, p. 329-339.

Ł

- ✚ **LUZ C., BACHAJ R., FONSECA R., SOUSA P (2010)**. Pérennes pollen comparative par africaniser abeilles apis mellifera des deux colonies en para de Minas Gerais Brésil de l'académie brésilienne des sciences PP293-304.

M

- ✚ **MANUEL SUISSE(2004)** .Des denrée Alimentaire (MSDA) chapitre 23 B pollen.
- ✚ **MARGARIDA MORAIS A et LEANDRO M (2011)**. Honeybee-collected pollen from five portugues natural parks phénolic, antioxydant properties and antimicrobienne activity.
- ✚ **MARGARIDA MORAIS A., LEANDRO MOREIRA A, XESUS FEAS B, LETICIA M. ESTEVINHO A, (2011)**. Honeybee- collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological Origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity *Food and Chemical Toxicology* 49 (2011) 1096–1101

MELIN Z (2002). Aperçu de la flore mellifère de Belgique et des régions voisines botaniques apicole gembloux.

- ✚ **MELINE (2009).** Botanique Apicole Université de liège, institut botanique, B22 sart tilman.
- ✚ **MEYER ,(1984).**Guide pratique apicole. Edition européennes apicole P216.
- ✚ **MISSET(1989).**Voir, connaitre et utilisé le pollen. Document INRAP 83. ISSANn°0396-4671.
- ✚ **MOREIRA, L ; DIAS L.G ; PEREIRA ; J.A ; ESTEVNHO, L (2008).** Antioxydant proprieties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. Food and chemical toxicology. 46. Pp 152-163.

O

- ✚ **OUCHEMOUKH S(2012).** Caractéristiques physicochimique, profils pollinique, glucidique et phénolique et activité antioxydant de miel en Algérie .Thèse de doctorat biologie université de Bretagne occidentale. PP 7-11.

P

- ✚ **PERNAL C., NICOL M (2000).** Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, v. 31, p. 387–409.
- ✚ **PULIDO R. ,BRAVO L R,W.(2000).** Antioxydant activity of dietary polyphénols as détermined by a modified ferric reducing/antioxydant power assay .*Journal of Agricultural and food chemistry* 48 PP 3396-4302.

- ✚ **PROST J.P ; LE CONTE Y (2005).** Apiculture : connaître l'abeille. Ed. Technique et documentation, Lavoisier, PARIS. Pp 579 -600.

Q

- ✚ **QIN F., SUN H,X., (2005).** Immunosuppressive activity of pollen *Typhae* ethanol extracton theimmuneresponsesinmice.*Journal of Ethnopharmacology* 102,424-429.

- ✚ **QIANE ET AL., (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 .

R

- ✚ **RIBERCEAU-GAYON(1972)** .Science et technique du vin.Tome 1.Ed Dumod paris p671.

- ✚ **ROMAIN.J ; THOMAS.C. ; PIERRE.S (2006)**. Science des aliments : autres constituants des aliments. Ed. Tec et Doc-Lavoisier. 45 p.

- ✚ **ROMANO B (2009)**. Le chemin du miel Ed AGRIDEA,Lausanne , 20 P.

- ✚ **ROULSTON et CANE (2000)** . Pollen nutritional content and digestibility for animalq.Plant systematics and evolution, pp 187-209.

S

- ✚ **SERRA-BONVEHI M ., STANDIFER B (1997)**. Nutrient Composition and Microbiological Quality of Honeybee-Collected Pollen in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p 725-732.

- ✚ **SILVA T.M.S; CAMARA C.A; LINKS A.C.S; BARBOSA – FILHO J.M; SILVA E.M.S; FREITAS B.M (2004)**. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Jornal of Food Composition and Analysis* PP 4705-4712.

- ✚ **SZACZASNA (2006)**. Protein content and amino acide composition of bee pollen collected pollen from selected botanical origins.*Journal of Apiculture science* pp 81-90.

V

- ✚ **VAISSIER H(2006)**. Pollinisation de l'abeille .Nauwelaert Edition .276P.

W

- ✚ **WANG H., GAO XD., CAI L ., W,R (2008)**. In vitro and in vivo antioxydant activity oaqueous extract frin Chobrospondia saxillaire.Food Chemistry.106 pp.
- ✚ **WENNING C.J (2003)**. Pollen and the honeybee. American bee journal 134. Pp 394-397.

Référence Web graphique :

- <http://www.apiservice.com>
- www.Wikipédia.org.
- www.catoire-fantasque.be/animaux/abeilles/pollen
- <http://www.Apiservice.com>
- <http://www.Futura-science.com/nutrition-pollen>
- <http://www.apiculture.ne/Ruche/Récolte>
- Anonyme 2008://www.Ibra.Org.uk
- Anonyme 2009 .www.apiculture.net
- <http://www.Fao.org/3/a-i0842t.pdf>
- Anonyme commercialisation/Pollen/PDF
- www.botanita.Com/catalogue_Afficher-peinture_acrylique-reference

❖ **Annexe (1) : Préparation de la solution de phénolphtaléine :**

1 g de phénolphthaléine dans l'éthanol à 1%.

❖ **Annexe (2) : Préparation de la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,1 N :**

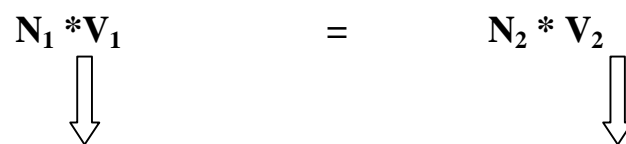
40 g de NaOH \longrightarrow 1N \longrightarrow 1000 ml

4 g de NaOH \longrightarrow 0,1 N \longrightarrow 1000 ml

0,8 g de NaOH \longrightarrow 0,1 N \longrightarrow 200ml

❖ **Annexe (3) : Préparation de la solution Acide sulfurique H₂SO₄ à 0,6 M :**

$$N_1 * V_1 = N_2 * V_2$$



Normalité connue * Volume recherché = Normalité voulue * Volume voulu

$$N_2 = \frac{96 * 2 * 1840}{100 * 98,076} = 36,02 \quad , \quad V_2 = 100 \text{ ml}$$

$$0,6 * 100 = 36,02 * V_2$$

$$V_2 = 1,67 \text{ ml}$$

❖ **Annexe (4) : Préparation de la solution carbonate de sodium Na₂CO₃ à 10 % :**

10 g de carbonate de sodium \longrightarrow 100ml d'eau distillée

❖ **Annexe (5) : Préparation de la solution Bicarbonate de sodium NaHCO_3 :**

35 g de NaHCO_3 —————→ 100 ml d'eau distillée

❖ **Annexe (6) : Préparation de KOH (Hydroxyde de potassium) méthanoïque à 2N :**

KOH —————→ 56.11 —————→ 1N —————→ 1000 ml de méthanol

On veut préparer 10 ml :

2×56.11 —————→ 1000 ml

X —————→ 10 ml

X = 1,12 g

❖ **Annexe (7) : Préparation de la solution molybdate d'ammonium $\text{NH}_4\text{Mo}_2\text{O}_7$ à 4M:**

1 Mol —————→ 1163,9 g/mol

1mmol —————→ $1163,9 \times 10^{-3}$

4mmol —————→ X

X = 4,65 g

On veut préparer 100 ml :

4,65 g —————→ 1000ml

X —————→ 100ml

X = 0,46 g

❖ **Annexe (8) : Préparation de la solution de phosphate de sodium NO₃PO₄ à 28M :**

$$1 \text{ Mol} \longrightarrow 163,94 \text{ g/mol}$$

$$1 \mu\text{mol} \longrightarrow 163,94 * 10^{-3}$$

$$28 \mu\text{mol} \longrightarrow X$$

$$X = 4,59 \text{ g}$$

On veut préparer 100 ml :

$$4,59 \text{ g} \longrightarrow 1000\text{ml}$$

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

$$X = 0,45 \text{ g}$$

❖ **Annexe (9) : Préparation des dilutions d'acide gallique**

➤ **Dilution (D₂) :**

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$0.013 \cdot V_1 = 0.01 \cdot 5$$

$$V_1 = 3,84 \text{ ml (SM)}$$

$$5 - 3,84 = 1,16 \text{ ml (méthanol)}$$

➤ **Dilution (D₃) :**

$$0.013 \cdot V_1 = 0.0065 \cdot 5$$

$$V_1 = 0.0065 \cdot 5 / 0.013 = 2.31 \text{ ml}$$

$$5 - 2.31 = 2.7 \text{ ml (méthanol)}$$

➤ **Dilution (D₄) :**

$$0.013 \cdot V_1 = 0.003 \cdot 5$$

$$V_1 = 0.003 \cdot 5 / 0.013 = 1.15 \text{ ml}$$

$$5 - 1.15 = 3.85 \text{ ml (methanol)}$$

❖ **Annexe (10) : Préparation des dilutions d'acide Ascorbique**

➤ **Dilution (D₂) :**

$$0,09 \cdot V_1 = 0,08 \cdot 10$$

$$V_1 = 8,8 \text{ ml}$$

$$10 - 8,8 = 1,2 \text{ ml (eau distillée)}$$

➤ **Dilution (D₃) :**

$$0,09 \cdot V_1 = 0,04 \cdot 10$$

$$V_1 = 4,4 \text{ ml}$$

$$10 - 4,4 = 5,6 \text{ ml DE}$$

➤ **Dilution (D₄) :**

$$0,09 \cdot V_1 = 0,02 \cdot 10$$

$$10 - 2,2 = 7,8 \text{ ml DE}$$

❖ **Annexe (11) : Cercle chromatique de couleurs:****Couleurs primaires :**

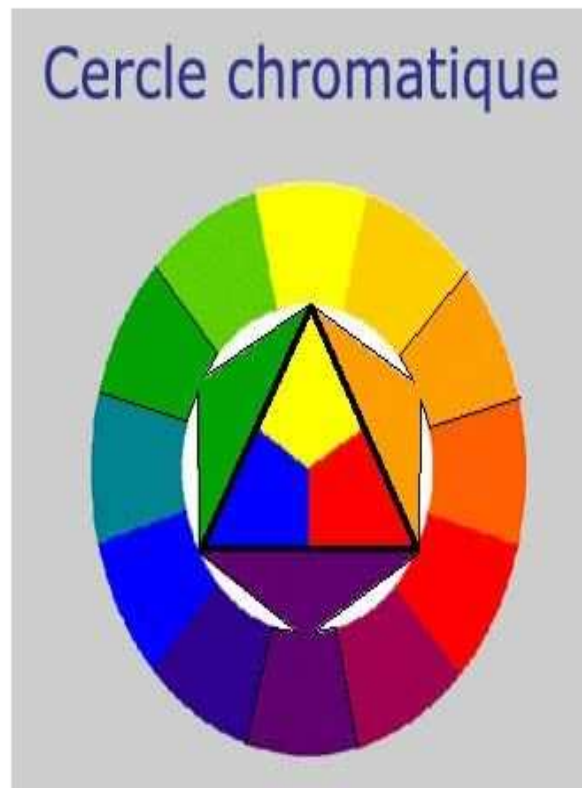
-  Jaune
-  Bleu
-  Rouge


Couleurs secondaires :

-  Violet (bleu + rouge)
-  Orange (jaune + rouge)
-  Vert (jaune + bleu)

Couleurs tertiaires :

-  Pourpre (rouge + violet)
-  Indigo (bleu + violet)
-  Turquoise (bleu + vert)
-  Vert chartreuse (bleu + vert)
-  Doré (jaune + orange)
-  Ecarlate (rouge + orange)

**Couleurs complémentaires :**

- du rouge = vert 
- du bleu = orange 
- du jaune = violet 